

Zeitschrift
für
Immunitätsforschung
und experimentelle Therapie
I. Teil: Originale

unter Mitwirkung von

M. Ascoli, Catania, **V. Babes**, Bukarest, **O. Ball**, Prag, **E. F. Bashford**, London, **S. Belfanti**, Mailand, **A. Breinl**, Liverpool, **A. Dieudonné**, München, **R. Doerr**, Basel, **M. Dorset**, Washington, **E. v. Dungern**, Hamburg, **M. Flecker**, Berlin, **S. Flexner**, New York, **U. Friedemann**, Berlin, **P. Froesch**, Berlin, **M. v. Gruber**, München, **L. Haendel**, Berlin-Dahlem, **M. Hahn**, Berlin, **A. Heffter**, Berlin, **L. Hektoen**, Chicago, **M. Jacoby**, Berlin, **C. O. Jensen**, Kopenhagen, **K. Kißkalt**, Kiel, **S. Kitasato**, Tokio, **W. Kolle**, Frankfurt a. M., **W. Kruse**, Leipzig, **K. Landsteiner**, New York, **C. Levaditi**, Paris, **L. v. Liebermann**, Budapest, **Th. Madsen**, Kopenhagen, **C. J. Martin**, London, **L. Michaelis**, Berlin, **Mießner**, Hannover, **J. Morgenroth**, Berlin, **R. Muir**, Glasgow, **M. Neisser**, Frankfurt a. M., **F. Neufeld**, Berlin, **F. Nuttall**, Cambridge, **R. v. Ostertag**, Stuttgart, **R. Otto**, Berlin, **R. Paltauf**, Wien, **A. Pettersson**, Stockholm, **R. Pfeiffer**, Breslau, **E. P. Pick**, Wien, **C. J. Salomonsen**, Kopenhagen, **A. Schattenfroh**, Wien, **Cl. Schilling**, Berlin, **P. Schmidt**, Halle a. S., **Th. Smith**, Boston, **G. Sobernheim**, Bern, **V. C. Vaughan**, Ann Arbor, **A. v. Wassermann**, Berlin, **W. Weichardt**, Erlangen, **A. Wladimiroff**, St. Petersburg, **A. E. Wright**, London, **D. Zabolotny**, St. Petersburg

herausgegeben von

E. FRIEDBERGER
(Greifswald.)

R. KRAUS
(Sao Paolo.)

H. SACHS
(Heidelberg.)

P. UHLENHUTH
(Freiburg i. Br.)

Sechshunddreißigster Band

Mit 1 Doppeltafel, 23 Abbildungen und 31 Kurven im Text



Jena
Verlag von **Gustav Fischer**
1923

Alle Rechte vorbehalten.

ZE 615.05
v.36 ZE
v.36

Inhaltsverzeichnis.

| | Seite |
|--|-------|
| Bauer, Karl , Beitrag zum Chemismus der Meinicke-Reaktion (D.M.) | 523 |
| Bauer, R., und Nyiri, W. , Zur Theorie und klinischen Verwendbarkeit der Meinicke-Reaktion. II. Mitteilung | 311 |
| Bien, Z. , Beiträge zur Morphologie und Entwicklung des <i>Bacillus typhi exanthematici</i> (Weil-Felix). Mit 5 Abbildungen im Text . | 431 |
| Bonacorsi, Lina , Ueber eine neue Serumreaktion für die Diagnose der Tuberkulose | 531 |
| Castelli, G. , Ueber die Toxizität der Arsenobenzole. Mit 2 Kurven im Text | 97 |
| Ehrenthell, O., und Weis-Ostborn, W. , Untersuchungen über Eiweiß und Lipoid mit Hilfe der Saponinhämolyse | 356 |
| Ehrenthell, O. , siehe Luger, A. | |
| Eisenberger, F. , Anaphylaxiestudien über Proteinkörper der Milch . | 291 |
| Friedberger, E., und Meißner, Gertrud , Typus und Wesen der isogenetischen — Verwandtschafts- und heterogenetischen Präzipitation mit monogenen Antiseris. Mit 1 Doppeltafel | 233 |
| Friedberger, E., und Meißner, Gertrud , Weitere Versuche über die karotal-zentrale Einspritzung | 367 |
| Friedberger, E., und Putter, E. , Bestehen Beziehungen zwischen der Anaphylatoxinbildung in vitro und der Aenderung der Oberflächenspannung? (Ueber Anaphylaxie. LXIII. Mitteilung.) . . | 215 |
| Friedberger, E., und Seimone, V. , Das Verhalten monogen-polyerger heterogenetischer Sera bei der passiven Anaphylaxie. (Ueber Anaphylaxie. LXIV. Mitteilung.) | 386 |
| Fuchs, Josef , Ueber das Verhalten apathogener Bakterien im Tierkörper unter der Einwirkung von Milch-(Ameisen-)säure | 122 |
| Goerttler, V. , Die Differenzierung von Rauschbrand und rauschbrandähnlichen Bazillen durch einen komplizierten Tierversuch . | 463 |
| Groth, A. , Immunisierungsversuche mit abgetöteter Variolavakzine . | 534 |
| Hayashi, J. , siehe Michaelis, L. | |
| Hecht, Hugo , Das Komplement als Funktion physikalisch-chemischer Faktoren. Seine Beziehungen zum Fieber, Anaphylaxie, Narkose und Rausch | 321 |
| Hilgers, W. E. , Beziehungen zwischen Ernährungszustand und Komplementgehalt beim Meerschweinchen | 68 |
| Hupbauer, Andreas , Ueber Reaktionen nach der Immunisierung von Pferden mit Schweinerotlauf-Bouillonkulturen. Mit 2 Kurven im Text | 348 |
| Jaggi, M. , Ueber das Wiederauftreten latent gewordener Agglutinine nach parenteraler Einverleibung von Deuteroalbumose oder Natrium nucleicum. Mit 9 Abbildungen im Text | 482 |
| Januschke, E. , Bemerkungen zu der Veröffentlichung von A. Wolff-Eisner über experimentelle Beiträge zur Frage der Tuberkulinimmunität, speziell auch zu der der antigenen Wirkung des Tuberkulins in Bd. 35, Heft 3 dieser Zeitschrift | 287 |

535042

IV

Inhaltsverzeichnis.

| | Seite |
|--|-------|
| v. Jettmar, Heinrich M. , Studien über die Konglutination und über das Schwanken des Konglutiningehaltes im Serum gesunder und kranker Rinder | 148 |
| Kondo, Seigo , Ueber Vermittlung hämolytischer Serumwirkungen und Komplementinaktivierung. (Versuche mit Inulin und <i>Prodigiosus</i> -bazillen.) | 76 |
| Kritschewsky, J. L. , Zur Frage der Artspezifität der Antikörper . . | 1 |
| Luger, A., Weis-Ostborn, W., und Ehrenthel, O. , Zur Kenntnis der Saponinhämolyse. (Die Beeinflussung der Saponinhämolyse durch Sera Karzinomatöser und durch Lezithin.) Mit 1 Kurve im Text | 17 |
| Marton, A. , siehe Reiner, L. | |
| Meißner, Gertrud , Ueber die Häufigkeit des Vorkommens heterogenetischer Präzipitine | 272 |
| Meißner, Gertrud , siehe Friedberger, E. | |
| Michaelis, L., und Hayashi, J. , Die Abhängigkeit der Wirkung des Trypaflavin und des Rivanol von der Alkalität | 518 |
| Michaelis, L., und Nakahara, Y. , Die fettspaltenden Fermente der Bakterien Mit 16 Kurven im Text | 449 |
| Nakahara, Y. , siehe Michaelis, L. | |
| Nyiri, W. , siehe Bauer, R. | |
| Oeller, H., und Schierge, M. , Zur theoretischen Bewertung der mit den Serum-Eiweißfraktionen angestellten Versuche über die Wassermannsche Reaktion | 59 |
| Presser, Karl, und Weintraub, Alfred , Zur Theorie der Goldsol- und Mastixreaktion. Mit 9 Abbildungen im Text | 34 |
| Putter, E. , siehe Friedberger, E. | |
| Reiner, L., und Marton, A. , Ueber die „Formogelatinierung“ der Sera und ihre diagnostische Verwertbarkeit | 133 |
| Reiner, L., und Marton, A. , Ueber die Wirkung der Eiweißabbau- produkte im Blute bei Schwangerschaft, Karzinom, Infektions- krankheiten usw. | 503 |
| Schierge, M. , siehe Oeller, H. | |
| Scimone, V. , Zur Komplementkonservierung, insbesondere in hyper- tonischer Salzlösung | 443 |
| Scimone, V. , siehe Friedberger, E. | |
| Tinti, M. , Der Einfluß der Temperaturerhöhungen auf die Oberflächen- spannung bei verschiedenen Bakterienarten. Mit 10 Kurven im Text | 337 |
| Weintraub, Alfred , siehe Presser, Karl. | |
| Weis-Ostborn, W. , siehe Ehrenthel, O. | |
| Weis-Ostborn, W. , siehe auch Luger, A. | |
| Wigand, R. , Erfahrungen mit der „serologischen Karzinomdiagnose“ | 202 |
| Yoshioka, Masaaki , Ueber das Bakteriengift, insbesondere die lös- lichen Gifte des Dysenterie-, Typhus- und Paratyphusbazillus. (III. Mitteilung.) | 395 |
| Yoshioka, Masaaki , Ueber das Bakteriengift, insbesondere die Schwan- kungen der direkten und indirekten letalen Dosis der Typhus- bazillen beim Meerschweinchen. (IV. Mitteilung.) | 419 |

Heft 1 (S. 1—96) ausgegeben am 20. Februar 1923.

„ 2/3 (S. 97—290) „ „ 26. März 1923.

„ 4 (S. 291—394) „ „ 16. April 1923.

„ 5/6 (S. 395—542) „ „ 15. Mai 1923.

Nachdruck verboten.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Neurologischen
Instituts der Universität zu Moskau.]

Zur Frage der Artspezifität der Antikörper.

Von Prof. Dr. med. u. phil. **J. L. Kritschewsky.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. Juni 1922.)

In dieser Arbeit will ich Versuche mitteilen, die zeigen sollen, daß die Lehre von den heterogenetischen Antikörpern allmählich einen immer breiteren Kreis von Tatsachen umfaßt hat.

Seit Forssmans Untersuchungen war es bekannt, daß einige, im phylogenetischen System einander ganz fernstehende Tierarten in ihren Organen, manche auch in ihren roten Blutkörperchen (Kritschewsky), ein Antigen ganz fremder Art, nämlich das eines Hammels, enthalten; denn bei der Immunisierung eines Tieres mit diesen Zellen werden Antikörper gegen Hammelerythrozyten gebildet.

Wie man später sehen wird, kann ich den Beweis erbringen, daß diese paradoxe Tatsache nicht allein dasteht. Die Organe einzelner Tiere, sowie einzelne Tiererythrozyten, besitzen außer ihren spezifischen Antigenen nicht nur unspezifische Hammelantigene, sondern auch noch heterogenetische Antigene anderer Tierarten. Ich werde im folgenden nachweisen, daß in den Zellen der Säugetiere — Hammelerythrozyten, Pferdenieren — das Antigen einer ganz anderen Tierklasse, das eines Huhnes, existiert.

Also das gleichzeitige Vorhandensein mehrerer Antigene in der Zelle steht nicht mehr vereinzelt da, kommt nicht mehr als Ausnahme vor, sondern muß als ein gewöhnliches biologisches Phänomen anerkannt werden, und die Möglichkeit seines Bestehens beweist die Einheit der Entstehung der organischen Welt.

Ich gehe jetzt zur Erklärung meiner Versuche über.

Tabelle

| No. des Tieres | | Heterogenetische Hämolysine | | | | | | | | | | | |
|----------------|--------|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
| | | Der Gehalt an Hämolysinen für Hühnererythrozyten | | | | | | | | | | | |
| | | 0,01 | 0,003 | 0,002 | 0,0016 | 0,0014 | 0,0012 | 0,001 | 0,0008 | 0,0006 | 0,0005 | 0,0004 | 0,00033 |
| 32 | st. H. | st. H. | st. H. | H. | H. | H. | H. | H. | A. H. | | | | |
| 101 | " | " | | st. H. | st. H. | " | " | A. H. | | | | | |
| 12 | " | " | A. H. | | | | | | | | | | |
| 121 | " | " | st. H. | st. H. | H. | H. | H. | l. H. | A. H. | | | | |
| 96 | " | H. | H. | A. H. | | | | | | | | | |
| 179 | " | st. H. | st. H. | H. | H. | H. | H. | H. | H. | A. H. | | | |
| 22 | " | " | " | st. H. | st. H. | st. H. | st. H. | " | " | H. | H. | A. H. | |
| 131 | " | " | " | H. | H. | H. | H. | " | l. H. | A. H. | | | |
| 161 | " | H. | H. | l. H. | A. H. | | | " | " | " | | | |
| 130 | " | " | " | H. | H. | H. | A. H. | | | | | | |
| 141 | " | st. H. | st. H. | " | " | " | " | H. | A. H. | | | | |
| 199 | " | " | " | " | " | " | " | l. H. | A. H. | | | | |
| 184 | " | " | " | st. H. | " | " | " | H. | A. H. | | | | |
| 162 | " | " | " | " | st. H. | " | " | H. | A. H. | | | | |
| 146 | " | " | " | " | " | st. H. | " | " | H. | H. | A. H. | | |
| 145 | " | " | " | " | H. | H. | " | A. H. | " | | | | |
| 147 | " | " | H. | H. | " | " | " | " | " | | | | |
| 143 | H. | H. | " | " | " | " | " | H. | H. | A. H. | | | |
| 134 | st. H. | st. H. | st. H. | st. H. | st. H. | " | " | A. H. | A. H. | | | | |
| 135 | " | " | " | " | " | " | " | " | " | | | | |
| 188 | " | " | " | " | H. | " | A. H. | " | " | | | | |
| Serum No. 2030 | " | " | " | " | st. H. | st. H. | st. H. | H. | H. | H. | H. | H. | A. H. |
| " " 2072 | " | " | " | " | " | " | " | st. H. | " | " | " | " | " |

Abkürzungen: st. H. = starke Hämolyse, H. = Hämolyse, l. H. = eichte Hämolyse, A. H. = Abwesenheit der Hämolyse, k. H. = komplette Hämolyse, p. H. = partielle Hämolyse, f. k. H. = fast komplette Hämolyse.

In meinen früheren Arbeiten ¹⁾, welche sich mit der Frage der heterogenetischen Antigene beschäftigten, habe ich bewiesen, daß die Hühnererythrozyten ein heterogenetisches Antigen besitzen; denn Kaninchen bilden bei Immunisierung mit Hühnerblutkörperchen Antikörper gegen Hammelerythrozyten (Hämolysine, Hämagglutinine und anaphylaktische Antikörper). Mir schien es nun sehr interessant, zu erforschen, ob zwischen diesen einander fremden Tierarten ein wechselseitiges Verhältnis bestehe, d. h. ob auch in den Hammelerythrozyten ein heterogenetisches Hühnerantigen existiere. Diese Frage kann

1) Kritschewsky, Journ. of experim. Med., Vol. 24, 1916. — Kritschewsky, Russki Wratsch, 1916 (russisch). — Kritschewsky, Chark. mediz. Journ., 1916 (russisch).

I.

| Homologe Hämolysine | | | | | | | | | | | | |
|--|-------|-------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|
| Hämolysingehalt für Hammelerythrozyten | | | | | | | | | | | | |
| 0,01 | 0,003 | 0,002 | 0,0016 | 0,0014 | 0,0012 | 0,001 | 0,0008 | 0,0006 | 0,0005 | 0,0004 | 0,00033 | 0,00025 |
| k. H. | k. H. | k. H. | k. H. | k. H. | f. k. H. | p. H. | l. H. | A. H. | A. H. | | | |
| " | " | " | " | " | k. H. | l. H. | " | l. H. | A. H. | | | |
| " | " | " | A. H. | k. H. | k. H. | k. H. | l. H. | A. H. | | | | |
| f. k. H. | l. H. | l. H. | A. H. | k. H. | k. H. | k. H. | l. H. | A. H. | | | | |
| k. H. | k. H. | k. H. | k. H. | k. H. | f. k. H. | f. k. H. | f. k. H. | p. H. | p. H. | A. H. | | |
| " | " | " | f. k. H. | f. k. H. | " | " | " | f. k. H. | A. H. | p. H. | A. H. | |
| " | " | " | k. H. | k. H. | k. H. | k. H. | p. H. | l. H. | A. H. | | | |
| " | " | " | p. H. | A. H. | k. H. | k. H. | p. H. | A. H. | | | | |
| " | " | " | k. H. | k. H. | k. H. | f. k. H. | p. H. | A. H. | | | | |
| " | " | " | " | f. k. H. | p. H. | p. H. | A. H. | A. H. | | | | |
| " | " | " | " | k. H. | k. H. | f. k. H. | p. H. | A. H. | | | | |
| " | " | " | " | " | " | " | f. k. H. | f. k. H. | p. H. | A. H. | | |
| " | " | " | " | " | " | k. H. | " | A. H. | | | | |
| " | " | " | " | " | " | " | " | p. H. | p. H. | A. H. | | |
| " | " | " | " | " | " | f. k. H. | l. H. | A. H. | | | | |
| " | " | " | " | " | " | l. H. | A. H. | k. H. | l. H. | A. H. | | |
| " | " | " | " | " | " | k. H. | k. H. | A. H. | | | | |
| " | " | " | " | " | " | f. k. H. | f. k. H. | A. H. | | | | |
| " | " | " | " | " | " | k. H. | k. H. | l. H. | A. H. | | | |
| " | " | " | " | p. H. | p. H. | A. H. | | | | | | |
| " | " | " | " | k. H. | k. H. | k. H. | f. k. H. | f. k. H. | f. k. H. | f. k. H. | p. H. | A. H. |
| " | " | " | " | " | " | f. k. H. | " | " | " | p. H. | " | " |

ich im positiven Sinne beantworten, da ich beim Immunisieren von Kaninchen mit Hammelerythrozyten Hämolysine gegen Hühnerblutkörperchen entdeckt habe.

Der Verlauf der Kaninchenimmunisierung mit Hammelerythrozyten ist im Protokoll A notiert.

Die Prüfung des Hämolysintiters wurde in 3 ccm Flüssigkeit ausgeführt (1 ccm Meerschweinchenkomplement, welches natürlich weder Hühner- noch Hammelerythrozyten löste, + 1 ccm des zu untersuchenden hämolytischen Serums + 1 ccm 5-proz. Aufschwemmung der entsprechenden Blutkörperchen). Ablesung nach 1 Stunde, 37 °.

Die heterogenetischen Hühnerhämolysine sind, wie man aus Tabelle I sieht, in unseren Seren in großer Menge vorhanden ¹⁾, sie erreichen fast oder ganz die homologen Hämolysine.

1) Den Hämolysingehalt kann man bei den Versuchen mit kernhaltigen roten Blutkörperchen nur auf Grund der mehr oder weniger in-

1*

Meine weitere Aufgabe bestand einerseits darin, die elektive hämolytische Wirkung der erhaltenen Sera zu erforschen und andererseits die Struktur des heterogenetischen Hämolysins zu prüfen.

Zu diesem Zweck wurde das Serum jedes Kaninchens gleichzeitig mit Hühner-, Hammel- und Rattenerythrozyten geprüft. Die Ergebnisse waren überall dieselben; keines der untersuchten Seren hat mit Rattenblutkörperchen Hämolysen gezeigt (Tabelle II).

Tabelle II.

| No. des Kan. | Hämolysingehalt für Hühnererythrozyten | | | Hämolysingehalt für Hammelerythrozyten | | | Hämolysingehalt für Rattenerythrozyten | | |
|--------------|--|--------|----------|--|-------|----------|--|----------|----------|
| | 0,01 | 0,002 | 0,001 | 0,01 | 0,002 | 0,001 | 0,01 | 0,002 | 0,001 |
| 32 | st. H. | st. H. | H. | k. H. | k. H. | k. H. | keine H. | keine H. | keine H. |
| 96 | " | H. | keine H. | f. k. H. | l. H. | keine H. | " | " | " |
| 130 | " | " | H. | k. H. | k. H. | f. k. H. | " | " | " |
| 146 | " | st. H. | " | " | " | k. H. | " | " | " |
| 143 | H. | H. | " | " | " | " | " | " | " |

Nach Ehrlichs Theorie sind Hämolysine Rezeptoren 3. Ordnung mit zwei haptophoren Gruppen. Die weiteren Versuche haben das Ziel festzustellen, ob die heterogenetischen Hämolysine, von denen wir hier gesprochen haben, dieselbe Struktur haben.

Vor allem war es nötig, das Vorhandensein oder das Fehlen der zytophilen Gruppe nachzuweisen. Dazu diente der folgende Versuch:

6 ccm Hühner-, Hammel- und Rattenblutkörperchenaufschwemmung (aus 3 ccm Bodensatz mit 9 ccm physiologischer NaCl-Lösung) wurden

tensiven Verfärbung der Flüssigkeitssäule feststellen, weil wegen der Anwesenheit der Kernschicht in allen Graden der Hämolysen nicht die Möglichkeit besteht, die Hämolysen nach den bei den kernlosen Blutkörperchen angewandten Methoden zu schätzen.

Erst am Ende dieser Arbeit konnte ich den Hämolysingrad genauer notieren: wenn am Schluß des hämolytischen Versuchs der Inhalt des Röhrchens zentrifugiert wird, sinken die der Hämolysen nicht unterworfenen Erythrozyten als spezifisch schwerere zu Boden und jene Erythrozyten, welche ihr Hämoglobin verloren haben, liegen als eine farblose Schicht über den ersteren. Wenn man den Apparat von Dr. Finkelstein anwendet oder ein graduiertes Zentrifugenglas, kann man den Hämolysingrad zahlenmäßig ausdrücken.

mit derselben Menge des zu untersuchenden Serums in der Verdünnung 1:50 gemischt und eine Stunde bei 37° gehalten (zweimal schütteln). Dann wurde zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit, welche nun eine Serumverdünnung 1:100 hatte, abpipettiert und auf ihren Hämolysingehalt für Hühner- und Hammelerythrozyten geprüft. Ablesung nach einer Stunde bei 37°.

Die Resultate der Versuche sind in der Tabelle III aufgezeichnet. Wenn wir ihre erste Hälfte betrachten, können wir uns überzeugen, daß die heterogenetischen Hämolysine eine zytophile Gruppe für Hühnererythrozyten besitzen, denn sie verbinden sich mit den Hühnerrezeptoren, welche sich sowohl in den Hühner- wie in den Hammelerythrozyten befinden (1. Hälfte der Tabelle III, Stab A und B). In gleicher Weise fixieren sich die homologen Hämolysine für die Hammelerythrozyten auf den artspezifischen Hammelrezeptor, wobei es gleich ist, ob sich der Rezeptor in den Hammelerythrozyten — Stab B der 2. Hälfte der Tabelle III — oder in den Hühnererythrozyten — Stab A der 2. Hälfte der Tabelle III — befindet.

Stab C der Tabelle III, 1. und 2. Hälfte, bestätigt die Tatsachen der Tabelle II. Er zeigt, daß die untersuchten Hämolysine nur auf jene Erythrozyten, welche in ihrem Protoplasma den Hühner- oder Hammelrezeptor enthalten, eine elektive Wirkung ausüben.

Versuche, welche in Tabelle III zusammengefaßt sind, geben uns die Möglichkeit, auch über die Avidität der heterogenetischen Hämolysine zu urteilen. Stab A der 1. Hälfte dieser Tabelle enthält die Resultate der Bindungsversuche der Hämolysine mit Hühnererythrozyten, geprüft mit denselben Blutkörperchen (Hühner). In Stab A der 2. Hälfte der Tabelle III sind die Ergebnisse der Bindungsversuche der Hämolysine mit Hühnererythrozyten, geprüft mit Hammelblutkörperchen, eingetragen¹⁾. Beim Vergleich dieser Tatsachen mit denen von Stab B beider Hälften der Tabelle III ergibt sich, daß nach der Bindung eine gewisse Menge von Hammelhämolysinen immer

1) Ähnliche Versuche sind schon früher von mir angestellt worden (siehe die rechte Hälfte der Tabelle VII in meiner Arbeit: Die heterogenetischen hämolysierenden Sera, Journ. of exp. Med., Vol. 24, 1916), dabei waren die Resultate mit den jetzigen identisch.

Tabelle

| No. des Tieres | A. Nach Absättigung mit Hühnererythrozyten | | | | | | | | B. Nach Absätti- | | |
|----------------------------------|--|----------|-------|--------|--------|--------|-------|--------|------------------|-------|-------|
| | Serummengene | | | | | | | | Serum- | | |
| | 0,01 | 0,003 | 0,002 | 0,0016 | 0,0014 | 0,0011 | 0,001 | 0,0006 | 0,01 | 0,003 | 0,002 |
| 1. Die Bestimmung des Hämolysin- | | | | | | | | | | | |
| 32 | A. H. | A. H. | . | A. H. | . | A. H. | . | . | A. H. | A. H. | . |
| 179 | " | " | A. H. | . | . | " | . | . | " | " | . |
| 131 | H. | " | " | . | . | " | . | . | " | " | . |
| 130 | A. H. | " | " | . | . | " | . | . | " | " | . |
| 184 | " | " | " | A. H. | . | " | . | . | " | " | . |
| 162 | st. H. | " | . | " | . | " | . | . | " | " | . |
| 145 | A. H. | " | . | " | . | " | . | . | " | " | . |
| Blumenthals Se- rum No. 2030 | H. | . | A. H. | . | . | . | A. H. | A. H. | " | . | A. H. |
| Blumenthals Se- rum No. 2072 | A. H. | . | " | . | . | . | " | . | " | . | " |
| 2. Die Bestimmung des Hämolysin- | | | | | | | | | | | |
| 32 | f. k. H. | f. k. H. | . | l. H. | . | l. H. | A. H. | . | A. H. | . | A. H. |
| 179 | k. H. | k. H. | . | " | . | " | " | . | " | . | " |
| 131 | f. k. H. | f. k. H. | . | " | . | " | " | . | " | . | . |
| 130 | " | " | . | " | . | " | " | . | " | . | . |
| 184 | p. H. | A. H. | . | . | . | . | . | . | " | . | A. H. |
| 162 | " | l. H. | . | A. H. | . | . | . | . | " | A. H. | " |
| 145 | k. H. | f. k. H. | l. H. | . | A. H. | . | . | . | " | . | " |
| Blumenthals Se- rum No. 2030 | " | k. H. | k. H. | . | . | . | p. H. | A. H. | " | . | " |
| Blumenthals Se- rum No. 2072 | . | . | . | . | . | . | . | . | " | . | " |

frei bleibt (2. Hälfte), Hühnerhämolysine jedoch nur manchmal (1. Hälfte).

Die Tabelle zeigt, daß die Avidität der hämolytischen Ambozeptoren zu den heterogenetischen und homologen Rezeptoren der fremden Erythrozyten (d. h. der Hühner) herabgesetzt ist, dagegen für homologe und heterogenetische Rezeptoren der Blutkörperchen, die zur Erzeugung gedient haben — Hammelblutkörperchen — vollkommen vorhanden ist.

Neben der zytophilen Gruppe besitzen unsere heterogenetischen Hämolysine auch eine komplementophile Gruppe, das zeigen die Versuche, deren Resultate Tabelle IV wiedergibt.

Wir dürfen also annehmen, daß die heterogenetischen Hämolysine für Hühnererythrozyten, welche bei der Immunisierung von Kaninchen mit Hammelblutkörperchen erhalten

III.

| S. Nach Absättigung mit Hammelerythrozyten | | | | | C. Nach Absättigung mit Rattenerythrozyten | | | | | | | |
|--|--------|--------|-------|--------|--|--------|--------|--------|--------|--------|----------|----------|
| menge | | | | | Serummenge | | | | | | | |
| 0,0016 | 0,0014 | 0,0011 | 0,001 | 0,0006 | 0,01 | 0,003 | 0,002 | 0,0016 | 0,0014 | 0,0011 | 0,001 | 0,0006 |
| gehalts für Hühnererythrozyten. | | | | | | | | | | | | |
| A. H. | . | A. H. | . | . | st. H. | st. H. | . | H. | . | H. | | |
| " | . | " | . | . | " | " | . | " | . | " | | |
| " | . | " | . | . | " | " | . | " | . | " | | |
| " | . | " | . | . | " | " | . | " | . | " | | |
| " | A. H. | " | . | . | " | " | st. H. | " | H. | " | | |
| " | " | A. H. | . | . | " | " | " | " | st. H. | " | | |
| " | . | " | . | . | " | " | " | " | " | " | | |
| . | . | " | . | A. H. | " | " | " | . | . | . | st. H. | H. |
| . | . | " | . | " | " | " | " | . | . | . | " | " |
| gehalts für Hammelerythrozyten. | | | | | | | | | | | | |
| . | . | A. H. | . | . | k. H. | k. H. | k. H. | . | . | p. H. | | |
| A. H. | . | " | . | . | " | . | " | . | . | k. H. | | |
| " | . | " | . | . | " | . | " | . | . | " | | |
| . | . | " | . | . | " | k. H. | " | k. H. | . | " | | |
| . | . | " | . | . | " | " | " | " | . | " | | |
| . | . | " | . | . | " | " | " | " | . | " | | |
| . | . | A. H. | . | A. H. | " | . | k. H. | . | . | . | k. H. | f. k. H. |
| . | . | " | . | " | " | . | " | . | . | . | f. k. H. | " |

werden, so konstruiert sind wie die homologen Hämolysine und wie überhaupt alle Lysine; denn sie besitzen zytophile und komplementophile Gruppen wie alle Rezeptoren dritter Ordnung.

Die Versuche zum Nachweis der komplementophilen Gruppen wurden folgendermaßen angestellt:

Zuerst wurde die geringste lösende Komplementdosis bestimmt. Dann wurden je 12 ccm einer Aufschwemmung dreimal gewaschenen Hühner-, Hammel- und Rattenblutkörperchen (3 ccm des Bodensatzes auf 9 ccm physiologischer NaCl-Lösung) mit der gleichen Menge der zu untersuchenden Sera gemischt und 1 Stunde bei 37° gehalten, um die Hämolysine mit Hilfe ihrer haptophoren (zytophilen) Gruppen an jene Erythrozyten, welche entsprechende Rezeptoren (Huhn, Hammel, aber nicht Ratte) besitzen, zu verankern.

Diese Mischung wurde zentrifugiert, die Flüssigkeit entfernt und die Blutkörperchen dreimal gewaschen; zu 3 ccm des gewaschenen Bodensatzes

wurde das Komplement hinzugefügt, und zwar so, daß auf 1 ccm des Bodensatzes die bei der vorgegangenen Titrierung für 1 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung von Blutkörperchen bestimmte lösende Dosis kam. Dann wurde so viel physiologische NaCl-Lösung hinzugegeben, daß nach 1 Stunde Aufenthalt bei 37° und erneutem Zentrifugieren 1,5 ccm der Flüssigkeit (sie ist bei der Mischung mit Rattenerythrozyten farblos und in der Mischung mit Hammel- und Hühnerblutkörperchen immer verfärbt) jene vorher bestimmte lösende Komplementmenge enthält.

Zu diesen 1,5 ccm wurden 0,5 ccm hämolytisches Serum (dreifach lösende Dosis) und 0,5 ccm 5-proz. Aufschwemmung von Hammelblutkörperchen hinzugefügt und die Mischung 1 Stunde lang in den Brutschrank gestellt (37°).

Außer der oben beschriebenen Methodik wandte ich stets noch eine etwas veränderte an: zu 1 ccm des Bodensatzes wurde die ganze Komplementmenge, welche zur Hämolyse von 1 ccm Bodensatz nötig war, zugesetzt, z. B. wenn der Komplementtiter für 1 ccm 5-proz. Blutaufschwemmung 0,03 ist, darf man für 1 ccm Bodensatz 0,6 nehmen.

Im übrigen wie oben erwähnt.

Die Resultate waren identisch. Das Komplement in der Dosis 0,03 wie in der Dosis 0,6 wurde immer von dem Komplex Hühner- oder Hammelerythrozyten + hämolytisches Serum gebunden und war in dem Kontrollversuche frei (Rattenerythrozyten + Hämolysin) (Tabelle IV); daraus muß man die Folgerung ziehen, daß die hier untersuchten heterogenetischen Hämolysine eine komplementophile Gruppe besitzen.

Tabelle IV.

| No. des Tieres | Komplement- entdeckung nach 1stündig. Aufenthalt bei 37° mit sensibilisierten Hühnererythrozyten | Komplement- entdeckung nach 1stündig. Aufenthalt bei 37° mit sensibilisierten Hammelerythrozyten | Komplement- entdeckung nach 1stündig. Aufenthalt bei 37° mit sensibilisierten Rattenerythrozyten |
|----------------|--|--|--|
| 32 | keine Hämolyse | keine Hämolyse | komplette Hämolyse |
| 179 | " " | " " | " " |
| 131 | " " | " " | " " |
| 130 | " " | " " | " " |
| 184 | " " | " " | " " |
| 162 | " " | " " | " " |
| 145 | " " | " " | " " |

Ich habe schon früher bewiesen, daß bei der Immunisierung von Kaninchen mit Hühnererythrozyten diese Tiere, während sie heterogenetische Hämolysine für Hammelblutkörperchen bilden, gleichzeitig heterogenetisch für Hammelblutkörperchen sensibilisiert werden, aus diesem Grunde habe ich

dies Phänomen als heterogenetische Anaphylaxie bezeichnet¹⁾. Aus dem Vorhandensein einer solchen Tatsache könnte man analog schließen, daß die Kaninchen bei der Immunisierung durch Hammelerythrozyten auch heterogenetisch für Hühnererythrozyten sensibilisiert werden.

Die in dieser Absicht angestellten Versuche, die in dem Protokoll A näher erklärt sind, haben die in Tabelle V eingetragenen Resultate ergeben. Von 19 Tieren haben nach dem Anaphylaxieversuche 9 keine krankhaften Erscheinungen gezeigt und sind am Leben geblieben, 4 starben in derselben Nacht, blieben aber nach dem Versuch selbst gesund, 3 haben auf die Reinjektion mit einem dem anaphylaktischen Shock ganz ähnlichen Symptomenkomplex reagiert und starben nach 1,5–3 Minuten, 3 Tiere reagierten mit scharf ausgeprägter Unruhe, Manögebewegungen oder schnell vorübergehender Extremitätenparese.

Protokoll A.

Kaninchen 32, 1190 g. 22. X. 1,5 ccm Hammelerythrozyten²⁾ i.v. 1. XI. zweimal nacheinander in einem Zeitraum von $\frac{1}{2}$ Stunde 0,25 + 1,25 ccm dgl. i.v., 11. XI. 0,25 + 1,0 ccm dgl. i.v. Prüfung des Hämolysegehalts siehe Tabelle I³⁾. 19. XI. 2,0 ccm Hühnererythrozyten i.v. Keine Krankheitserscheinungen; am Leben geblieben⁴⁾.

Kaninchen 101, 1050 g. 22. X. 1,5 ccm und 1. XI. 0,2 + 1,25 ccm Hammelerythrozyten i.v. 8. XI. Hämolyseversuch. 8. XI. 4,0 ccm Hühnererythrozyten i.v. Keine Krankheitserscheinungen; in der Nacht zum 9. XI. kreperte das Tier.

Kaninchen 12, 1180 g. 22. X. 1,5 ccm und 1. XI. 0,2 + 1,25 ccm Hammelerythrozyten i.v. 8. XI. Hämolyseversuch. 8. XI. 4,0 ccm Hühnererythrozyten i.v. Keine Krankheitserscheinungen; in der Nacht zum 9. XI. starb es.

Kaninchen 121, 1360 g. 22. X. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 1. XI. 0,2 + 1,25 ccm dgl. i.v. 8. XI. Hämolyseversuch. 8. XI. 2,5 ccm Hühnererythrozyten i.v. Keine Krankheitserscheinungen; in der Nacht zum 9. XI. kreperte es.

Kaninchen 96, 1260 g. 22. IV. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 1. V. 0,25 + 1,75 ccm dgl. i.v. 8. V. Hämolyseversuch. 9. V. 1,5 ccm

1) Kritschewsky, Russki Wratsch, 1916, No. 39.

2) Die verzeichneten Erythrozytenmengen zeigen die Zahl der Kubikzentimeter nach der Zentrifugierung des Bodensatzes an. Den Kaninchen wurde eine 50-proz. Blutkörperchenaufschwemmung eingespritzt.

3) Das Resultat des Versuchs ist hier in Tabelle I gebracht.

4) Der Zustand der Tiere wurde 3×24 Stunden beobachtet.

Hühnererythrozyten i.v. Nach 5 Minuten ein anaphylaktischer Shock; 1,5 Minuten später tot.

Kaninchen 179, 1290 g. 22. IV. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 6. V. 0,25 + 1,25 ccm dgl. i.v. 11. V. 0,25 + 1,0 ccm dgl. i.v. 18. V. Hämolyserversuch. 19. V. 2,0 ccm Hühnererythrozyten. Keine Krankheitserscheinungen; am Leben geblieben.

Kaninchen 22, 1530 g. 28. IV. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 7. V. 0,25 + 1,25 ccm dgl. i.v. 15. V. 1,5 ccm dgl. i.v. 22. V. Hämolyserversuch. 23. V. 0,5 + 1,0 ccm Hammelerythrozyten i.v. Nach 4 Minuten ein anaphylaktischer Shock; nach 4,5 Minuten tot.

Kaninchen 131, 1900 g. 28. IV. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 7. V. 0,25 + 1,25 ccm und 16. V. 0,25 + 1,25 ccm dgl. i.v. 22. V. Hämolyserversuch. Entblutet.

Kaninchen 161, 1250 g. 28. IV. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 7. V. 0,25 + 1,20 ccm dgl. i.v. 15. V. Hämolyserversuch. 16. V. Hühnererythrozyten i.v. Keine Krankheitserscheinungen; in der Nacht zum 17. V. tot.

Kaninchen 130, 1250 g. 28. IV. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 7. V. 3,0 ccm dgl. in das Peritoneum. 15. V. Hämolyserversuch. 16. V. 2,0 ccm Hühnererythrozyten i.v. Nach 2 Minuten ein anaphylaktischer Shock; 1,5 Minuten später tot. Bei der Autopsie: die Baueingeweide sind stark mit Blut gefüllt, das Herz ohne Thromben, die Lungen sind etwas vergrößert und ödematös. (Beim Drücken fließt aus dem Schnitt eine kleine Menge schaumiger seröser Flüssigkeit.)

Kaninchen 141, 1080 g. 28. IV. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 8. V. 30,0 ccm dgl. in das Peritoneum. 7. V. 0,25 + 1,25 ccm dgl. i.v. 23. V. Hämolyserversuch. 23. V. 2 ccm Hühnererythrozyten. Keine Krankheitserscheinungen; es blieb tot in der Nacht zum 24. V.

Kaninchen 199, 1150 g. 28. IV. i.v. 1,5 ccm Hammelerythrozyten. 8. V. 2,0 ccm dgl. in das Peritoneum. 16. V. Hämolyserversuch. 16. V. i.v. 2,0 ccm Hühnererythrozyten. Nach dem Einspritzen eine leichte Erregung ohne andere Erscheinungen; das Tier lebt.

Kaninchen 184, 1190 g. 28. IV. i.v. 1,5 ccm Hammelerythrozyten. 8. V. 2,0 ccm dgl. i.p. 16. V. Hämolyserversuch. 16. V. Hühnererythrozyten i.v. Keine Krankheitserscheinungen; am Leben geblieben.

Kaninchen 162, 1740 g. 29. IX. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 6. X. 0,25 + 1,25 ccm dgl. i.v. 13. X. Hämolyserversuch. 13. X. 2,0 ccm Hühnererythrozyten i.v. Nach $\frac{1}{2}$ Minute fing es an, Aufregung zu zeigen, Manebewegungen zu machen, nachher erholte es sich wieder; am Leben geblieben.

Kaninchen 146, 1950 g. 29. IX. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 6. X. 0,25 + 1,0 ccm dgl. i.v. 14. X. Hämolyserversuch. 14. X. 1,5 ccm Hühnererythrozyten i.v. Am Leben geblieben.

Kaninchen 145, 1600 g. 29. IX. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 6. X. 0,25 + 1,0 ccm dgl. i.v. 14. X. Hämolyserversuch. 15. X. 2,0 ccm Hühnererythrozyten i.v. Keine Krankheitserscheinungen; am Leben geblieben.

Kaninchen 147, 1530 g. 28. IX. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 6. X. 0,5 + 1,0 ccm dgl. i.v. 14. X. Hämolysversuch. 14. X. 2,0 ccm Hühnererythrozyten. Bald nach dem Einspritzen schnell vorübergehende Parese der hinteren Extremitäten, dann erholt sich das Tier wieder; am Leben geblieben.

Kaninchen 143, 1440 g. 29. IX. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 6. X. 0,5 + 1,0 ccm dgl. i.v. 14. X. Hämolysversuch. 14. X. 2,0 ccm Hühnererythrozyten i.v. Keine Krankheitserscheinungen; am Leben geblieben.

Kaninchen 134, 1750 g. 29. IX. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 6. X. 0,5 + 1,0 ccm dgl. i.v. 13. X. Hämolysversuch. 13. X. 2,0 ccm Hühnererythrozyten i.v. Keine Krankheitserscheinungen; am Leben geblieben.

Kaninchen 135, 2150 g. 29. IX. 1,5 ccm Hammelerythrozyten i.v. 6. X. 0,5 + 1,0 ccm dgl. i.v. 13. X. Hämolysversuch. 14. X. 2,0 ccm Hühnererythrozyten i.v. Nach der Injektion schnell vorübergehende Parese der hinteren Extremitäten, nachher erholt sich das Tier wieder; es ist am Leben geblieben.

Kaninchen 188, 1650 g. 29. IX. 1,5 ccm Hammelblutkörperchen i.v. 6. X. 0,5 + 1,0 ccm dgl. i.v. 14. X. Hämolysversuch. 14. X. Hühnererythrozyten i.v. Bald nach der Injektion die für einen anaphylaktischen Shock typischen klinischen Symptome. Nach 3 Minuten tot.

Tabelle V.

| No. des Tieres | Der Zustand des Tieres nach d. anaphylaktischen Versuch | No. des Tieres | Der Zustand des Tieres nach d. anaphylaktischen Versuch |
|----------------|---|----------------|---|
| 32 | Lebendig, keine Krankheitserscheinungen | 184 | Lebendig, keine Krankheitserscheinungen |
| 101 | Lebendig, keine Krankheitserscheinungen | 162 | Unruhe. Manöverbewegungen. Lebendig |
| 12 | Keine Krankheitserscheinungen. In der Nacht tot | 146 | Lebendig, keine Krankheitserscheinungen |
| 121 | Keine Krankheitserscheinungen. In der Nacht tot | 145 | Lebendig, keine Krankheitserscheinungen |
| 96 | Shock nach 5 Min.; † nach 1,5 Min. | 147 | Schnell vorübergehende Parese der hinteren Extremitäten; lebendig |
| 179 | Lebendig, keine Krankheitserscheinungen | 143 | Keine Krankheitserscheinungen, lebendig |
| 161 | Keine Krankheitserscheinungen. In der Nacht tot | 134 | Keine Krankheitserscheinungen, lebendig |
| 130 | Shock nach 2 Min.; † nach 1,5 Min. | 135 | Schnellvergehende Parese der Extremitäten, lebendig |
| 141 | Keine Krankheitserscheinungen. In der Nacht tot | 188 | Shock. † nach 3 Tagen |
| 199 | Lebendig, keine Krankheitserscheinungen | | |

Allerdings dürften wir auf Grund der Tabelle V folgern, daß beim Immunisieren der Kaninchen mit Hammelerythro-

zyten auch heterogenetische anaphylaktische Antikörper für Hühnererythrozyten gebildet werden. Aber tatsächlich muß ich mich einer solchen Folgerung enthalten, weil die Kontrollproben bewiesen haben, daß die Hühnererythrozyten an sich wirken können, indem sie einen Shock bei frischen, nicht immunisierten Kaninchen hervorrufen, welcher von dem anaphylaktischen Shock nach den äußerlichen Symptomen nicht zu unterscheiden war. Als Kontrollversuche kann ich 33 Kaninchen betrachten, welche zu verschiedenen Zwecken mit Hühnerblutkörperchen immunisiert waren; 4 von ihnen haben auf die erste intravenöse Injektion von Hühnererythrozyten mit Shock und Tod (nach 3, 59, 62 und 124 Minuten) reagiert, 3 aber starben in der Nacht nach der Einspritzung. Ich bringe hier das Protokoll der letzten Versuche.

Protokoll B.

Kaninchen 1040 g. 8. XI. 1,5 ccm Hühnererythrozyten i.v. 1 Stunde nach dem Einspritzen fängt der Shock an, der in allen Details dem anaphylaktischen ähnlich war. † nach 2 Minuten.

Kaninchen 1310 g. 8. XI. 1,25 ccm Hühnererythrozyten i.v. Nach 55 Minuten Shock. † nach 4 Minuten.

Kaninchen 1240 g. 8. XI. 2,5 ccm Hühnererythrozyten i.v. In der Nacht auf 9. XI. tot.

Kaninchen 1120 g. 8. XI. 2,5 ccm Hühnererythrozyten i.v. In der Nacht zum 9. XI. starb es.

Kaninchen 1870 g. 5. XII. 1,5 ccm Hühnererythrozyten i.v. Nach 2 Stunden Shock. † nach 4 Minuten.

Kaninchen 660 g. 16. V. 2,0 ccm Hühnererythrozyten i.v. Nach 6 Stunden Shock. (Injiziert wurden dieselben Erythrozyten wie bei No. 130, Protokoll A.)

Kaninchen 1600 g. 14. X. 2,0 ccm Hühnererythrozyten i.v. Shock bald nach dem Einspritzen. † nach 3 Minuten. (Injiziert dieselben Erythrozyten wie bei No. 180, Protokoll A.)

Als besonders beweiskräftig betrachte ich die zwei letzten Versuche (Protokoll B); da die Kaninchen 188 und 130 bei dem Versuch den Symptomenkomplex eines anaphylaktischen Shocks zeigten, wurden den Kaninchen 1600 g und 660 g (Protokoll B) dieselben Hühnerblutkörperchen eingespritzt. Das Kaninchen 1600 g ging unter denselben Shocksymptomen zugrunde wie No. 188, und das Kaninchen von 660 g starb nach 6 Stunden ¹⁾.

1) Ich muß bemerken, daß die Erythrozyten, die den Kaninchen No. 188 und No. 1600 g eingespritzt wurden, im Eiskeller aufbewahrt

Aus einem solchen Ergebnis der Kontrollversuche kann man erkennen, daß sich bei Kaninchen, die durch Hammelerythrozyten immunisiert werden, keine heterogenetischen anaphylaktischen Antikörper bilden. Ferner bilden sich bei der Immunisierung von Kaninchen mit Hammelerythrozyten keine heterogenetischen Hämagglutinine, obgleich bei denselben Tieren homologe Agglutinine entstehen (Tabelle VI).

Tabelle VI.

| No. des Tieres | Die Menge heterogene- tischer Agglutinine für Hühnererythrozyten | | | | Die Menge der homologen Ag- glutinine für Hammelerythro- zyten | | | | |
|---------------------------------|--|-------|-------|-------|--|-------|-------|-------|--------|
| | 0,01 | 0,005 | 0,002 | 0,001 | 0,01 | 0,005 | 0,002 | 0,001 | 0,0006 |
| 22 | — | — | — | — | + | + | + | + | — |
| 130 | — | — | — | — | + | + | — | — | — |
| 146 | — | — | — | — | + | + | + | — | — |
| Blumenthals Se- rum No. 2030 | + | — | — | — | + | + | + | — | — |
| Blumenthals Se- rum No. 2072 | — | — | — | — | + | + | + | + | — |

+ = Agglutination vorhanden, — = Agglutination nicht vorhanden.

Im Anfange dieser Arbeit habe ich schon erwähnt, daß das heterogenetische Hühnerantigen nicht nur in den Hammelerythrozyten, sondern auch in den Organen (Nieren) des Pferdes existiert.

Das Protokoll C und Tabelle VII bestätigen dies.

Protokoll C.

Kaninchen No. 26, 1430 g. 10. X. 0,54 g Pferdeniere in die Bauchhöhle. 17. X. 0,98 g dgl. 26. X. Prüfung der Hämolysine.

Kaninchen No. 84, 1650 g. 10. X. 0,75 g Pferdeniere in die Bauchhöhle. 17. X. 0,8 g dgl. 26. X. Prüfung der Hämolysine.

Kaninchen No. 75, 1550 g. 10. X. 0,75 g Pferdeniere in die Bauchhöhle. 17. X. 0,8 g dgl. 26. X. Prüfung der Hämolysine.

waren. Es scheint mir, daß die Toxizität der Hühnererythrozyten für das Kaninchen nicht absolut ist; dieselben Erythrozyten, welche für ein Individuum toxisch sind, brauchen bei den anderen keine krankhaften Erscheinungen hervorzurufen. So wurden die Erythrozyten vom 8. XI., deren intravenöse Injektion den Tod von 4 Kaninchen veranlaßt hatte, von den Tieren No. 11 und No. 40 sehr gut vertragen; das mit dem Hühnerblutkörperchen gespritzte Kaninchen 1870 g ging zugrunde, aber die Tiere No. 148, 192, 140 wurden mit ihnen ohne schädliche Folgen immunisiert (siehe die Protokolle in meiner Arbeit: Die heterogenetischen hämolytischen Sera, Journ. of exp. Med., Vol. 24, 1916).

Tabelle VII.

| No. des Tieres | Der Gehalt an heterogenetischen Hämoly- sinen für Hühnererythrozyten | | | | | | Der Gehalt an heterogenetischen Hämoly- sinen für Hammelerythrozyten | | | | | |
|----------------|---|--------|----------|--------|----------|----------|---|-------------|-------|-------------|-------------|----------|
| | 0,01 | 0,003 | 0,002 | 0,0012 | 0,001 | 0,0008 | 0,01 | 0,003 | 0,002 | 0,0012 | 0,001 | 0,0008 |
| 26 | st. H. | st. H. | st. H. | H. | H. | keine H. | k. H. | k. H. | k. H. | nicht k. H. | nicht k. H. | keine H. |
| 84 | „ | H. | keine H. | | | | nicht k. H. | nicht k. H. | l. H. | keine H. | | |
| 75 | „ | st. H. | st. H. | st. H. | keine H. | | k. H. | k. H. | k. H. | k. H. | l. H. | „ |

Ich weiß nicht, ob ich später noch einmal auf die heterogenetischen Antikörper zu sprechen komme, deshalb halte ich es für nötig, hier auf einen Irrtum bei der Ablesung des Hämolysegrades von Hühnererythrozyten mit dem homologen Serum hinzuweisen. Der Irrtum liegt darin, daß bei allen Hämolysegraden leicht die Tatsache der Kernintegrität vernachlässigt wird, die Abschätzung des Hämolysegrades genau so gemacht wird, wie bei den Versuchen mit kernlosen Blutkörperchen, aber nicht so, wie es in dieser Arbeit beschrieben worden ist. Bei jenem Schätzungsmodus war der Titer 0,01, wobei man leicht auf eine unbedeutende Menge von homologen Hämolysinen für Hühnererythrozyten schließt, während sie in der Tat sehr bedeutend ist, schon an sich und besonders auch im Vergleich mit der Menge der heterogenetischen Hämolysine für Hammelblutkörperchen, wie Tabelle VIII zeigt.

Tabelle VIII.

| No. des Tieres | Der Gehalt an Hämolysinen für Hammelerythrozyten | | | | | Der Gehalt an Hämolysinen für Hühnererythrozyten | | | | | | | | |
|----------------|---|--------|-------------|----------|----------|--|--------|--------|---------|---------|---------|--------|----------|----------|
| | 0,002 | 0,0014 | 0,001 | 0,0006 | 0,0005 | 0,002 | 0,001 | 0,0005 | 0,00025 | 0,00016 | 0,00012 | 0,0001 | 0,0008 | 0,00006 |
| 174 | k. H. | k. H. | nicht k. H. | l. H. | keine H. | st. H. | st. H. | st. H. | st. H. | st. H. | st. H. | t. H. | H. | keine H. |
| 175 | „ | „ | k. H. | „ | „ | „ | „ | „ | H. | H. | H. | H. | keine H. | |
| 137 | „ | „ | „ | keine H. | „ | „ | „ | „ | H. | H. | H. | H. | „ | |

Ehe ich meine Arbeit schließe, möchte ich noch einige allgemeine Fragen erörtern. Nach Forssmans und späterer Autoren Arbeiten, welche erklärt haben, daß die Zellen ver-

schiedener, ganz fernstehender Tierformen einen ihnen vollständig fremden Hammelrezeptor besitzen (dementsprechend werden bei Immunisierung von Kaninchen mit ihnen Antikörper gegen Hammelblutkörperchen gebildet), ist es einfach unmöglich, an der Lehre von der Spezifität der Antikörper und der Spezifität der Zellrezeptoren festzuhalten. Die in dieser Arbeit mitgeteilten Tatsachen zeigen, daß nicht nur der Hammelrezeptor allein heterogenetisch sein kann, sondern daß in der Zelle zusammen mit dem arteigenen Rezeptor auch Rezeptoren anderer fremder Arten, z. B. Hühner, existieren können, und daß gleichzeitig in derselben Zelle zwei heterogenetische Rezeptoren vorhanden sein können.

Mit einem Worte, der Zellkörper enthält nicht nur arteigene und der entsprechenden Art verwandte Rezeptoren (z. B. die Hammelerythrozyten, Ochs- und Ziegenrezeptoren), sondern auch Rezeptoren ganz fremder Arten. Diesen Tatsachen gemäß dürfen wir die Zelle als Komplex phylogenetisch verschiedener Antigene betrachten und müssen anerkennen, daß in der Zelle 1) arteigene Rezeptorengruppen — homologe — und 2) Rezeptoren fremder Arten — heterogenetische Antigene — existieren, deshalb bilden sich beim Immunisieren der Tiere gleichzeitig homologe und heterogenetische Antikörper.

Uebereinstimmend mit diesen Tatsachen muß man die Lehre von der Antikörperspezifität modifizieren.

Zusammenfassung.

1) Hammelblutkörperchen besitzen ein heterogenetisches Hühnerantigen und deshalb werden bei Kaninchenimmunisierung gleichzeitig mit den homologen Hämolysinen auch heterogenetische Hämolysine für Hühnererythrozyten gebildet.

2) Die Struktur der heterogenetischen Hühnerhämolysine ist mit den homologen identisch. Beide sind Rezeptoren 3. Ordnung und besitzen eine zytophile und komplementophile Gruppe.

3) Die Avidität der hämolytischen Ambozeptoren zu den heterogenetischen und homologen Rezeptoren artfremder

Erythrozyten (d. h. der Hühner) ist herabgesetzt, dagegen entspricht sie vollkommen den heterogenetischen und den homologen Rezeptorengruppen der roten Blutkörperchen, welche die Hämolysine hervorgerufen haben (Hammelerythrozyten).

4) Beim Immunisieren mit Hammelerythrozyten werden Kaninchen nicht heterogenetisch für Hühnererythrozyten sensibilisiert.

5) Ebenso produzieren Kaninchen keine heterogenetischen Hämagglutinine.

6) Pferdeorgane (Nieren) enthalten auch heterogenetisches Hühnerantigen.

7) Uebereinstimmend mit den früher festgelegten Tatsachen und mit den Resultaten dieser gegenwärtigen Untersuchung, muß man die Zelle als Komplex phylogenetisch verschiedener Antigene betrachten. In der Zelle finden sich 1) homologe, arteigene Rezeptorengruppen, 2) Rezeptorengruppen phylogenetisch verwandter Arten und endlich 3) heterogenetische Rezeptoren phylogenetisch ganz fremder Arten. Beim Immunisieren der Tiere können sich gleichzeitig nicht nur homologe Antikörper und Antikörper gegen die verwandten Arten bilden, sondern auch in einer ganzen Reihe von Fällen heterogenetische Antikörper. In Uebereinstimmung mit diesen Thesen muß die Lehre von der Artspezifität der Antikörper geändert werden.

Nachdruck verboten.

[Aus der II. med. Universitätsklinik (Vorstand: Hofrat Prof. Dr. Norbert Ortner).]

Zur Kenntnis der Saponinhämolyse.

(Die Beeinflussung der Saponinhämolyse durch Sera Karzinomatöser und durch Lezithin.)

Von A. Luger, W. Weis-Ostborn und O. Ehrentheil.

Mit 1 Kurve im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. Juli 1922.)

Izar hat seinerzeit angegeben, daß die Mischung von Seris Karzinomatöser mit den von Izar verwendeten synthetischen Präparaten (Myristilsäure, Albumose, Kasein, Edestin, ferner mit von Olein und Palmitinsäure befreiten Fettsäuren aus Kalbspankreas, Sarkomen, Karzinomen) eine stärkere hämolytische Wirkung erkennen läßt, als in den entsprechenden Kontrollversuchen (Antigen + Serum nicht Tumorkrank) beobachtet werden kann. Von dieser Angabe ausgehend, haben Köhler und Luger nach Versuchen mit anderen hämolytischen Systemen, insbesondere die Saponinhämolyse herangezogen, um vielleicht mit Hilfe dieser Reaktion einen geeigneten Indikator für den bei der Meiostragminreaktion wirksamen Faktor zu finden. Köhler und Luger verwendeten die von ihnen angegebenen Azeton-Lezithinextrakte (AL), weil sich ihnen gerade diese Extrakte für die Karzinomdiagnose mittels der Meiostragminreaktion bewährt hatten, eine Erfahrung, welche ja inzwischen von einer Reihe von Autoren bestätigt worden ist (Arzt und Zarzycki, Balcarek, Ferrari und Urizio, Kelling, Roffo, Weis-Ostborn, Wolfsohn, Zarzycki).

Köhler und Luger beschränkten sich damals auf orientierende Versuche bei Verwendung von Saponinlösung und Hammelblut, nach vorheriger einstündiger Einwirkung des Serums und des Extraktes bei 50°. Bei dieser Versuchs-

anordnung schien es, als ob bei Gegenwart eines Tumorserums die Saponinhämolyse schneller vor sich ginge, als bei Verwendung von Nicht-Tumorserum. Da diese Untersuchungen damals zu keinem abschließenden Resultate führten, nahmen wir dieselben neuerlich in erweitertem Umfange auf, zunächst gleichfalls von dem Gedanken ausgehend, die Einwirkung des Gemisches Tumorserum + AL im Vergleiche zur Mischung Normalserum + AL und Nicht-Tumorserum + AL zu studieren. Schon nach wenigen Versuchen zeigte sich, daß auch in den Kontrollröhrchen, die nur Tumorserum in entsprechenden Verdünnungsverhältnissen und kein AL enthielten, fast regelmäßig ein rascherer Ablauf der Saponinhämolyse festzustellen war, als bei der Verwendung eines Nicht-Tumor- oder Normalserums bei entsprechenden Verhältnissen, so daß wir in der Folgezeit in erster Linie die Beeinflussung der Saponinhämolyse durch nicht mit AL versetzte Ca-Sera in den Rahmen unserer Untersuchungen zogen. Bevor wir auf die Wiedergabe der Protokolle und die Besprechung der Versuche eingehen, soll in Kürze die angewandte Technik geschildert werden.

Bereitung der Stammlösungen :

1) Saponinpräparat der Firma Merck in physiol. Kochsalzlösung in der Verdünnung 1:1000 gelöst.

2) AL wurde nach Angabe von Köhler und Luger (Wiener klin. Wochenschr., 1913, S. 292) hergestellt: Zu 5 g Lezithin Richter wurden 50 ccm reines Azeton zugesetzt, das Lezithin $\frac{1}{2}$ Stunde in konzentriertem Azeton verrieben, hernach beide Substanzen zusammen 24 Stunden in den Brutofen bei 37° gestellt, dann durch ein Schleicher-Schüllfilter No. 90 filtriert. Diese Stammlösung wurde in entsprechender Weise, die später beschrieben werden wird, verdünnt.

3) Hammelblutkörperchenaufschwemmung.

4) Serum.

5) Physiologische Kochsalzlösung.

Die Methodik der Versuchsanordnung änderte sich im Verlaufe der Arbeit mehrmals, und zwar hing dieselbe fast ausschließlich von der Fragestellung ab. Solange es sich uns darum handelte, das Optimum der Reaktion zu finden, also möglichst viele Varianten der Serumverdünnung, AL-Verdünnung, Saponinverdünnung zu untersuchen, gingen wir folgendermaßen vor: In jede Epruvette kam $\frac{1}{2}$ ccm der entsprechenden Serumverdünnung, $\frac{1}{2}$ ccm physiol. Kochsalzlösung.

ferner 1 ccm der entsprechenden Saponinverdünnung und ein Tropfen einer konzentrierten, mit physiol. Kochsalzlösung dreimal gewaschenen Hammelblutkörperchenaufschwemmung. Arbeiteten wir mit AL, so kamen in eine Eprouvete: $\frac{1}{2}$ ccm Serumverdünnung, $\frac{1}{2}$ ccm AL-Verdünnung — die Verdünnung des AL geschah nicht wie bei der Meistagminreaktion mit Aqua destillata, sondern, da es sich um hämolytische Versuche handelt, mit physiol. Kochsalzlösung — ferner 1 ccm Saponinverdünnung, 1 Tropfen Hammelblut. In beiden Fällen resultierte eine Flüssigkeitsmenge von 2 ccm in jeder Eprouvete. Später erschien es uns zweckmäßig, die Versuche in Reihenanzordnung aufzustellen, um auch die Reaktionsbreite des Ausschlages zu studieren. Die Versuchsanordnung war dann, wie folgt: 5fach mit physiol. Kochsalzlösung verdünntes Serum wurde fortlaufend 2fach verdünnt (1 : 5, 1 : 10 usw. bis 1 : 2960), dazu entweder 1 ccm 1 : 4000 bzw. 1 : 8000 Saponinlösung oder, falls mit AL gearbeitet wurde, $\frac{1}{2}$ ccm der 1 : 200 bzw. 1 : 1600 AL-Verdünnung und $\frac{1}{2}$ ccm 1 : 2000 bzw. 1 : 4000 Saponinlösung zugesetzt. Auf diese Weise wurde erreicht, daß die resultierenden Saponinkonzentrationen ebenso wie das Flüssigkeitsvolumen bei den Versuchen mit und ohne AL einander gleich waren. Ferner wurde hier im Gegensatz zu früher nicht mehr 1 Tropfen einer konzentrierten, sondern $\frac{1}{2}$ ccm einer 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung zugesetzt, so daß hier jede Eprouvete 2,5 ccm Flüssigkeit enthielt. Abgelesen wurde im allgemeinen nach $\frac{1}{2}$ Stunde, nach 2 Stunden, nach 15 Stunden. Die Saponinlösung wurde durchschnittlich alle 10 Tage bereitet, da erfahrungsgemäß das Saponin bei längerem Stehen „altert“. Die ursprünglich wasserklare Saponinlösung wird nämlich nach einiger Zeit trüb, etwas gelblich gefärbt und verliert an hämolytischer Wirksamkeit. Die AL-Verdünnung wurde ebenso wie die Hammelblutkörperchenaufschwemmung bei jedem Versuche frisch hergestellt. Die Sera wurden nach der Abnahme — dies geschah stets vor der Mittagsmahlzeit — nach erfolgter Gerinnung sogleich abgestochen und zentrifugiert, um Hämolyse zu vermeiden. Hämolytische Sera erwiesen sich alsbald als unbrauchbar. Sämtliche Sera waren, wenn nicht anders vermerkt, nur wenige Stunden alt.

2*

Zunächst sei ein Versuchsprotokoll angeführt, das im Sinne der eingangs zitierten Beobachtung von Köhler und Luger zu sprechen scheint:

Protokoll No. 1.

| Diagnose | $\frac{1}{2}$ ccm 1:10 Serum + $\frac{1}{2}$ ccm 1:400 AL + 1 ccm 1:4000 Saponin + 1 Tropfen Hammelblut. Serum nicht inaktiviert | 1 ccm 1:20 Serum + 1 ccm 1:4000 Saponin + 1 Tropfen Hammelblut. Serum nicht inaktiviert | Dasselbe wie in A. Serum inaktiviert | Dasselbe wie in B. Serum inaktiviert |
|---|---|---|---|---|
| | A | B | C | D |
| Kontroll- } Vitium cordis fall } incompensatum | fast noch +++ | zwischen + u. ++ | +++ | zwischen + u. ++ |
| Ca. bronchi | zwischen + u. ++ | + | ++ | + |

Die in den einzelnen Protokollen gebrauchten Zeichen bedeuten:
— = komplette Lysis, +++ = komplette Hemmung, die übrigen verwendeten Zeichen bedeuten Zwischenstufen.

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß der Unterschied in der Hämolyse zwischen Nicht-Ca + AL und Ca-Serum + AL größer ist als zwischen Nicht-Ca und Ca-Serum allein. Dies gilt sowohl für das aktive als das inaktive Serum. Es ist hervorzuheben, daß hier von der ursprünglichen Versuchsanordnung insofern abgegangen worden ist, als nicht, wie bei Köhler und Luger, zuerst Antigen zusammen mit Serum 2 Stunden bei 50° erhitzt wurde, sondern daß das Serum bei obigem Versuche in Epruvette C und D zuerst $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert und dann nach Zusatz des Antigens durch 2 Stunden im Brutofen bei 37° gehalten wurde.

Bevor wir auf die Untersuchung der Hemmung der verschiedenen Sera im näheren eingehen, mußten wir, da die Angaben der Literatur keine volle Uebereinstimmung zeigen, einzelne prinzipielle Fragen zu beantworten suchen.

Ransom führt die Schutzwirkung des Serums lediglich auf seinen Cholesteringehalt zurück. Hauptmann und Noguchi sagen, daß das Lezithin keinen Einfluß auf die Saponinhämolyse habe. Nach Kyes kommt dem Lezithin an sich eine geringgradige hämolytische Wirkung zu. Kurt Meyer stimmt Ransom insofern zu, als er eine größere Verwandtschaft des Cholesterins zum Saponin annimmt, meint aber, daß das freibleibende Lezithin mit dem Saponin eine Verbindung eingeht, wodurch

es eine hemmende Wirkung der Hämolyse hervorruft. Ebenso sprechen Frey und Meierstein von einer hemmenden Wirkung des Lezithins. Arrhenius fand die Hämolyse bei Verwendung großer Saponinmengen durch Zusatz von Lezithin etwa auf die Hälfte herabgesetzt, bei Verwendung von kleineren Saponinmengen verstärkt dagegen das Lezithin die Wirkung des Giftes. Nach Kobert scheint die zeitliche Reihenfolge des Zusatzes der einzelnen Substanzen von Wichtigkeit zu sein. Setzt man nämlich Lezithin nach bereits längerer Zeit hindurch erfolgter Saponin-Erythrozytenbindung zu, so wird dadurch die eingeleitete Hämolyse beschleunigt. Wird aber Lezithin und Saponin gleichzeitig zugesetzt, so scheint das Lezithin die Saponinsubstanz wenigstens teilweise unwirksam zu machen, woraus im Gegensatz zur Kobragifhämolyse bei der Saponinhämolyse eine Hemmung resultiert. Endlich prüft Pascucci die Wirkung des Lezithins an künstlich hergestellten Lezithin- und Cholesterinmembranen und konnte dabei zeigen, daß Lezithinmembranen schneller gelöst werden als Cholesterinmembranen. Der Autor nimmt daher an, daß zwischen dem Saponin und dem Lezithin eine gewisse Verwandtschaft bestehe.

Um diese strittige Frage zu entscheiden, stellten wir Reihenversuche mit Lezithin auf folgende Weise an: 0,25 g Lezithin Richter in Substanz wurden in Aether gelöst, das gelöste Lezithin tropfenweise in 1000 ccm erwärmte physiol. Kochsalzlösung zugesetzt und der Aether durch Sauerstoffdurchleitung vertrieben. Mit dieser milchig getrübbten 4-proz. Lezithinemulsion wurde hierauf folgende Reihe aufgestellt:

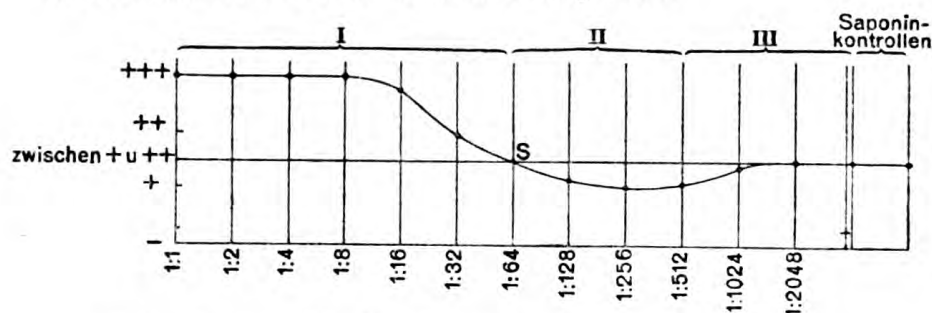
Protokoll No. 2.

1 ccm Lezithinemulsion fallend verdünnt + 1 ccm 1:4000 Saponin + $\frac{1}{2}$ ccm 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung.

| Saponinkon- zentration | Ablesungs- zeit | | | | | | | | | | | | | | | Saponinkon- trollen. Statt der Lezithin- Emulsion 1 cem phys. NaCl-Lösung | |
|---------------------------|--------------------|------------------------------------|------|------|------|------|------|------|--------------|-------|-------|-------|--------------|--------|--------------|--|--|
| | | Verdünnung der Lezithinemulsion | 1:1 | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | 1:64 | 1:128 | 1:256 | 1:512 | 1:1024 | 1:2048 | 0 | 0 | |
| 1:4000 | 7' | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | zw. u. ++ | + | + | + | zw. u. ++ | zw. ++ | zw. u. ++ | zw. u. ++ | |

Wir sehen in den ersten sechs Eproutetten, also in verhältnismäßig hohen Lezithinkonzentrationen, eine deutliche Hemmung gegenüber den beiden, am Schlusse der Reihe aufgestellten Saponinkontrollen, in der Mitte der Reihe eine in drei Eproutetten deutlich sichtbare Förderung, gegen Ende ein allmähliches Angleichen an die Saponinkontrolle. Es ist

hervorzuheben, daß zuerst die erste Saponinkontrolle, dann alle übrigen Eprouvetten und zum Schlusse die zweite Saponinkontrolle mit Blut aufgefüllt wurde. Es spielte also die geringe zeitliche Differenz, die durch die Auffüllung der einzelnen Eprouvetten hervorgerufen wurde, wie aus der Gleichheit der beiden Saponinkontrollen ersichtlich ist, keine Rolle. Um diesen Befund noch deutlicher vor Augen zu führen, sei er in Form einer Kurve nochmals dargestellt.



Gebiet I entspricht der Hemmung.

„ II „ „ Förderung.

„ III „ „ allmählichen Angleichung an die Saponinkontrolle.

Der Punkt S entspricht jener Stelle der Kurve, bei der die Hämolyse zeitlich mit der der Saponinkontrolle zusammenfällt.

Protokoll

In jeder Eprouvette: 1 cem Lezithinemulsion fortlaufend verdünnt (1:1, 1:2

| Saponinkonzentration | Ablesungszeit | Verdünnung der | | | | | | |
|----------------------|---------------|----------------|-----|----------------|---------------|-----------------|---------------------|-----------------|
| | | 1:1 | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | 1:64 |
| 1:1000 | 4' | +++ | +++ | zw. + u. ++ | zw. + u. — | — | — | — |
| 1:2000 | 6' | +++ | +++ | +++ | ++ | zw. + u. — | zw. + u. — | — |
| 1:3000 | 6' | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | + | + |
| 1:4000 | 8' | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | zw. + u. +++ |
| 1:6000 | 17' | +++ | +++ | +++ | +++ | zw. + u. +++ | ++ | + |
| 1:8000 | 25' | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | fast noch +++ | ++ |

Von besonderem Interesse ist die Beobachtung, daß sich die Stelle der stärksten Förderung bei höherer Saponinkonzentration auch schon bei höherer Lezithinkonzentration kundgibt, was durch die unten folgende Tabelle demonstriert werden soll.

Die erwähnte Förderung war in jeder Eprouvette deutlich zu sehen, in den Reihen höherer Saponinverdünnung war sie infolge der längeren Lösungszeit eine halbe Stunde hindurch sichtbar, in den Reihen geringerer Lösungszeit verschwand sie natürlich sehr bald. Die Reihe 1:6000 fällt insofern etwas heraus, als die Förderung schon bei etwas höheren Konzentrationen, als zu erwarten war, auftrat. Die Ablesungszeit mußte selbstverständlich in jeder Reihe modifiziert werden. Es wird durch das Ergebnis dieses Versuchs verständlich, daß einzelne Autoren von Hemmung, andere von Förderung, wieder andere von Unwirksamkeit des Lezithins auf die Saponinhämolyse sprechen, offenbar deshalb, weil unter verschiedenen Versuchsbedingungen und mit verschiedenen Lezithinverdünnungen gearbeitet wurde; es dürften die Autoren, die Hemmung fanden, sich in ihren Versuchen im Gebiete I der Kurve befunden haben, die Autoren, die Förderung fanden, im Gebiete II.

No. 3.

usw.) + 1 cem Saponinverdünnung + $\frac{1}{2}$ cem Hammelblutaufschwemmung.

| 4-proz. Lezithinemulsion | | | | | Saponinkontrollen | |
|--------------------------|---------|---------|---------|---------|-------------------|---------|
| 1:128 | 1:256 | 1:512 | 1:1024 | 1:2048 | | |
| zw. | zw. | zw. | zw. | zw. | zw. | zw. |
| + u. — | + u. — | + u. — | + u. — | + u. — | + u. — | + u. — |
| — | zw. | zw. | zw. | zw. | zw. | zw. |
| | + u. — | + u. — | + u. — | + u. — | + u. — | + u. — |
| + | zw. | zw. | zw. | zw. | zw. | zw. |
| | + u. ++ | + u. ++ | + u. ++ | + u. ++ | + u. ++ | + u. ++ |
| + | + | + | zw. | zw. | zw. | zw. |
| | | | + u. ++ | + u. ++ | + u. ++ | + u. ++ |
| + | + | zw. | zw. | zw. | zw. | zw. |
| | | + u. ++ | + u. ++ | + u. ++ | + u. ++ | + u. ++ |
| zw. | zw. | zw. | ++ | ++ | ++ | ++ |
| + u. ++ | + u. ++ | + u. ++ | | | | |

Protokoll

In jeder Eprouvette: 1 cem AL-Aufschwemmung fortlaufend verdünnt +

| Saponinkon- zentration | Ablesungs- zeit | Verdünnung der | | | | | |
|---------------------------|--------------------|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------|
| | | 1:1 | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 |
| 1:1000 | 1' | +++ | zw. ++ u. +++ | + | fast — | + | zw. + u. ++ |
| 1:2000 | 2' | +++ | +++ | ++ | fast — | fast — | + |
| 1:3000 | 3' | +++ | +++ | +++ | zw. ++ u. +++ | fast — | + |
| 1:4000 | 10' | +++ | +++ | zw. ++ u. +++ | ++ | — | + |
| 1:6000 | 15' | +++ | +++ | +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | ++ |
| 1:8000 | 35' | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |

Ein ähnliches Verhalten, vielleicht noch deutlicher, zeigt das von uns in unseren Versuchen verwendete AL in verschiedenen Verdünnungen. Auch diese Befunde mögen hier folgen (siehe Protokoll No. 4).

Als Stammlösung diente hier AL im Verdünnungsverhältnis 1:25. Davon wurden fallende Verdünnungen, wie in der Tabelle bezeichnet (1:1, 1:2 usw.) hergestellt.

Um zu erproben, ob das Azeton in den von uns gebrauchten Verdünnungen trotz Aufenthalts im Brutofen irgendeinen Einfluß auf die Saponinhämolyse habe, wodurch unsere Resultate modifiziert würden, wurden auch einige Kontrollversuche mit Azeton und Saponin aufgestellt, bei denen es sich zeigte, daß das Azeton in höheren Konzentrationen die Hämolyse förderte, in den von uns gebrauchten Verdünnungen jedoch bei der gegebenen Versuchsanordnung vollkommen ohne Einfluß war.

Die Bedeutung der Konzentration, der Saponinlösung ergibt sich aus folgenden Reihen (siehe Protokoll No. 5).

Wie ersichtlich, war die Hämolyse bei der Saponinkonzentration 1:1000 und 1:2000 nach einer halben Stunde bereits vollkommen abgelaufen. Bei der Saponinkonzentration

No. 4.

1 ccm Saponinverdünnung + $\frac{1}{2}$ ccm Hammelblutkörperchenaufschwemmung.

| AL-Emulsion | | | | | | Saponinkontrollen | |
|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|
| 1:64 | 1:128 | 1:256 | 1:512 | 1:1024 | 1:2048 | | |
| zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ |
| zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ |
| fast + | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ | zw. + u. +++ |
| fast + | ++ | ++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ |
| fast — | zw. + u. +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| zw. + u. +++ | fast + | zw. + u. +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |

1:4000 war der Unterschied zwischen Karzinomserum und Normalserum sowohl nach $\frac{1}{2}$ wie nach 2 Stunden deutlich sichtbar, bei der Saponinkonzentration 1:8000 trat der Unterschied erst bei der Ablesung nach 17 Stunden auf. Eine Ablesung nach kürzerer Zeit als nach $\frac{1}{2}$ Stunde ist nicht angezeigt, da die Ablesung vieler Eprouvetten eine gewisse Zeit erfordert, innerhalb welcher bei höheren Saponinkonzentrationen Änderungen in der Lysis auftreten. Es ist daher im allgemeinen von Vorteil, mit langsamer lösenden, d. h. also

Protokoll No. 5.

In jeder Eprouvete: 1 ccm 1:20 Serum + 1 ccm der in der Tabelle angegebenen Saponinverdünnung + 1 Tropfen Hammelblut.

| Saponin-konzentration | Ablesungszeit | Normalserum | Karzinomserum |
|-----------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------|
| 1:1000 | $\frac{1}{2}$ h | — | — |
| 1:2000 | $\frac{1}{2}$ h | — | — |
| 1:4000 | $\frac{1}{2}$ h 3 h 17 h | +++ zwischen + u. ++ — | ++ — — |
| 1:8000 | $\frac{1}{2}$ h 3 h 17 h | +++ +++ +++ | +++ +++ ++ |

niedrigeren Saponinkonzentrationen zu arbeiten (1:4000, 1:8000). In zahlreichen vergleichenden Untersuchungen erwies sich die Ablesung nach 2 Stunden als die vorteilhafteste, wenn wir auch außerdem zwecks genaueren Studiums des Verlaufs der Reaktion stets nach $\frac{1}{2}$ Stunde und nach 15 Stunden abgelesen haben.

Die vergleichenden Untersuchungen zur Bestimmung der günstigsten Mengen AL ergaben, daß keine direkte quantitative Beziehung zwischen AL und Serumkonzentration, übrigens auch nicht zur Saponinkonzentration besteht. Das Optimum ist zeitlich bedingt, Saponin ist der fördernde, Serum und AL sind die hemmenden Faktoren. Zwischen fördernden Faktoren einerseits und hemmenden Faktoren andererseits muß ein Gleichgewicht bestehen. Bei gleichbleibender Saponinkonzentration müssen bei steigender Serumkonzentration fallende Mengen AL verwendet werden und umgekehrt. Auf Grund zahlreicher vergleichender Untersuchungen wurde ein Optimum dieser drei Faktoren gefunden, das von den seit Ascoli und Izar bei der Meistagminreaktion üblichen Verhältnissen zwischen Serum und AL zum Teil abwich. Es schien bei unseren Versuchen zu liegen bei $\frac{1}{2}$ ccm Saponin 1:2000 + 1 ccm 1:40 Serum + $\frac{1}{2}$ ccm AL 1:200 + $\frac{1}{2}$ ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung bzw. $\frac{1}{2}$ ccm Saponin 1:4000 + 1 ccm 1:80 Serum + $\frac{1}{2}$ ccm AL 1:1600.

Mit Antigen wurden im ganzen 11 Sera untersucht, davon 4 Karzinome, 7 Sera anderer Krankheiten. Die Versuche wurden in der bei der Beschreibung der Versuchstechnik angeführten Weise aufgestellt. Der Uebersichtlichkeit wegen seien aus diesen Reihenversuchen nur die dem gefundenen Optimum der Reaktion entsprechenden Eprovetten angeführt (siehe Protokoll No. 6).

In diesem und in den folgenden Versuchen kamen ausschließlich eine halbe Stunde bei 56° inaktivierte Sera zur Anwendung, da einerseits Vorversuche gezeigt hatten, daß die relative Förderung der Saponinhämolyse bei den Karzinomsera durch Inaktivierung nicht beeinflußt wurde und andererseits durch die Inaktivierung eventuellen Versuchsfehlern durch variierende Mengen von Hämolysin vorgebeugt werden konnte.

Protokoll No. 6.

Eprouvette A: $\frac{1}{2}$ ccm 1:4000 Saponin + $\frac{1}{2}$ ccm 1:6600 AL + 1 ccm 1:80 Serum + $\frac{1}{2}$ ccm einer 5-proz. Hammelblutaufschwemmung.

Daneben die ohne AL erhobenen Befunde:

Eprouvette B: $\frac{1}{2}$ ccm 1:4000 Saponin + $\frac{1}{2}$ ccm physiol. Kochsalzlösung + 1 ccm 1:80 Serum + $\frac{1}{2}$ ccm Hammelblutaufschwemmung. Ablesungszeit überall nach 2 Stunden.

| Diagnose | A | B |
|---------------------------------------|---------------|---------------|
| Metastasen nach operiertem Uterus-Ca. | ++ | + |
| Ca. ventriculi | fast noch +++ | ++ |
| Ca. ventriculi | ++ | zw. + u. ++ |
| Ca. ventriculi | ++ | + |
| Nephritis | +++ | +++ |
| Pharyngitis | +++ | fast noch +++ |
| Benigne Pylorusstenose | fast noch +++ | ++ |
| Cholecystitis ohne Ikterus | +++ | fast noch +++ |
| Pyelitis | +++ | zw. ++ u. +++ |
| Diabetes mellitus | +++ | zw. ++ u. +++ |
| Anaemia perniciosa | ++ | fast noch +++ |

Wir sehen in der obigen Tabelle eine auffallend raschere Hämolyse bei den Karzinomsera gegenüber den Sera Nichtkarzinomatöser. Es wurden somit die seinerzeit aufgestellten Versuche von Köhler und Luger bestätigt. Da sich jedoch der Unterschied der Hämolyse in diesen Versuchen im Gegensatz zu dem oben angeführten Protokoll No. 1 ohne AL im allgemeinen deutlicher zeigt, wurden im weiteren Verlaufe die Versuche ohne AL angestellt. Auf den abnormen Befund, der, wie aus der Tabelle A ersichtlich ist, bei Anaemia perniciosa erhoben wurde, wird später eingegangen werden.

Untersuchungen über die Hemmung der Saponinhämolyse durch Serum sind von einer Reihe von Autoren gemacht worden, deren erster Ransom im Jahre 1901 war. Systematische Untersuchungen über die verschieden starke Hemmung durch pathologische Sera liegen bis jetzt von Simon, Melvin und Roche, Port, Landsteiner und Herz vor. Hauptmann und Neuda untersuchten die Schutzwirkung des Liquor cerebrospinalis bei verschiedenen Nervenkrankheiten. Simon, Melvin und Roche fanden öfters erniedrigte Schutzwirkung bei Tuberkulose und Syphilis. Von 15 von ihnen untersuchten malignen Tumoren zeigten 3 erniedrigte antihämolytische Werte, weitere 6 waren an der unteren Grenze der Norm, die übrigen 6 verhielten sich wie normale Sera. 5 untersuchte benigne Tumoren verhielten sich prozentuell ebenso wie maligne Tumoren, 4 Fälle von Cholelithiasis zeigten erhöhte Schutzkraft, wobei die Autoren nicht angaben, ob diese Fälle mit Ikterus einhergingen oder nicht. Ein untersuchter Fall von perniziöser Anämie zeigte nichts Abnormes. Port

fand erhöhte Schutzwirkung bei Diabetes mellitus, am stärksten bei den sogenannten schweren Formen, bei Nephritisfällen mit sehr reichlicher Eiweißausscheidung und mit mehr oder minder urämischen Erscheinungen, dagegen zeigten akute hämorrhagische Nephritis ohne Oedeme sowie typische chronische, interstitielle Nephritis keine Veränderung der Schutzkraft des Serums. Lues zeigte im allgemeinen keine Abweichung. Verminderung der Schutzkraft findet Port bei perniziöser Anämie, bei Echinococcus mit erheblicher Anämie und bei Pemphigus. Fälle von reiner sekundärer Anämie ergeben normale Schutzwerte. Bei einzelnen Fällen von Tuberkulose fand Port ebenfalls eine Verminderung der Schutzkraft, jedoch waren die Befunde nicht einheitlich. Alle übrigen von ihm untersuchten Sera zeigten keine Änderung gegenüber der Norm, so u. a. ein Icterus catarrhalis, ein paranephritischer Abszeß, eine Pneumonie und eine myeloische Leukämie. Landsteiner und Herz fanden Hemmung vor allem beim Ikterus. Unter ihren Fällen befindet sich auch ein Gallenblasenkarzinom mit Ikterus.

Von den von uns untersuchten 76 Seris stammen 22 von klinisch einwandfreien, zum Teil autoptisch sichergestellten Karzinomen, die übrigen 54 Sera von Krankheiten verschiedenster Art, zum Teil leichten Affektionen, zum Teil fieberhaften und kachektischen Zuständen.

Infolge der bereits bei der Beschreibung der Versuchstechnik erwähnten Eigenschaften des Saponins, nach kurzer Zeit an hämolytischer Wirksamkeit zu verlieren, wurde von der Bestimmung eines durchschnittlichen Lösungswertes von Normalseris Abstand genommen. Selbst eine Verwendung frischer Saponinlösungen in jedem Versuche schützt nicht absolut, da schon geringste Veränderungen in der Konzentration eine zeitliche Verschiebung des Resultates zur Folge haben. Es wurde daher bei jedem Versuche ein Normalserum als Vergleichswert aufgestellt.

Unsere eigenen Untersuchungen konnten die Beobachtung Ports bezüglich der Perniciosa im Gegensatz zu anders lautenden Angaben von Simon, Melvin und Roche in zwei untersuchten Fällen — einen davon siehe Protokoll No. 6 A — ebenso die Befunde von Landsteiner und Herz bezüglich des Ikterus bestätigen. Auch zwei untersuchte Fälle von Karzinom + Ikterus hemmten, reagierten also im Sinne von Landsteiner und Herz. Bei den von uns untersuchten fieberhaften Fällen zeigte sich im allgemeinen eine geringere antihämolytische Wirkung des Serums gegenüber den parallel

laufenden Normalfällen, namentlich bei einem Falle von Bronchitis foetida, den wir einen Tag ante exitum untersuchten. Zwei Sera von Diabetikern mit starker Glykosurie zeigten hohe antihämolytische Werte im Einklang mit den Untersuchungen Ports, wogegen zwei durch Therapie zuckerfrei gemachte Diabetiker eher im Sinne geringerer antihämolytischer Wirkung den parallel laufenden Normalseris gegenüber reagierten. Bei 16 von den 20 untersuchten Fällen von Karzinom ohne Ikterus ging die Saponinhämolyse rascher vor sich, als bei den mitaufgestellten Normalsera oder Sera anderer Krankheiten. Ein Karzinom, das bei einer Untersuchung aus unbekannten Gründen hinter dem Normalserum zurückblieb, reagierte in zwei weiteren Untersuchungen positiv im Sinne der relativen Förderung. Ein weiteres Karzinom zeigte gegenüber dem Serum eines Luetikers keinen deutlichen Unterschied. In zwei Versuchen war das Karzinomserum dem Normalserum und anderen pathologischen Sera, darunter einem Diabetes, einer Aortitis, zwei Lues III, einer Pneumonie und sogar der Anaemia perniciosa in der Lysis voraus, blieb aber hinter den beiden in diesem Versuche mitaufgestellten Reihen von Sera zweier Ulcera ventriculi etwas zurück.

Im folgenden seien zur Illustrierung unserer Befunde zwei Versuchsprotokolle angeführt, die in deutlicher Weise den teilweisen Wegfall der Hemmung durch Karzinomserum gegenüber dem Serum anderer Krankheiten zeigen.

Protokoll No. 7.

Jede Eprouvette enthält: 1 ccm Serum von 1:10 an fallend verdünnt, 1 ccm 1:4000 bzw. 1:8000 Saponin + $\frac{1}{2}$ ccm 5-proz. Hammelblut-auschwemmung. Ablesungszeit nach 2 Stunden, sämtliche Sera inaktiviert.

Pat. U. H., Nephritis parenchymatosa.

| Saponin 1:4000 | | | | | | |
|----------------|--------|--------|---------|-------|----------------|---------------|
| 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | Sap.-K. | Ser.-K. |
| +++ | +++ | +++ | + | — | — | +++ |
| Saponin 1:8000 | | | | | | |
| 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 | 1:640 |
| 1:1280 | 1:2560 | 1:5120 | Sap.-K. | | | |
| +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | zw. + u. ++ | zw. + u. — |
| fast — | — | — | — | — | — | — |

Pat. A. K., Ca. uteri.

| Saponin 1:4000 | | | | | | | | | | |
|----------------|------|------|------|-------|---------|---------|--------|--------|--------|---------|
| 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | Sap.-K. | Ser.-K. | | | | |
| +++ | +++ | + | — | — | — | +++ | | | | |
| Saponin 1:8000 | | | | | | | | | | |
| 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 | 1:640 | 1:1280 | 1:2560 | 1:5120 | Sap.-K. |
| +++ | +++ | +++ | +++ | + | + | fast | — | — | — | — |

Da infolge der Variabilität der Saponinlösungen ein sicherer durchschnittlicher Lösungswert von Normal- bzw. Karzinomseris kaum erreicht werden kann und außerdem immerhin Sera von einigen Krankheiten (perniziöse Anämie, Diabetes ohne Zucker, fieberhafte Erkrankungen) als Fehlresultate erscheinen, so ist trotz des hohen Prozentsatzes an positiven Resultaten der Saponinreaktion in der Karzinomdiagnostik einstweilen wohl noch keine praktische Bedeutung beizumessen.

Die oben erwähnte Hemmung der Sera Ikterischer ist wohl ohne Zweifel durch den erhöhten Cholesteringehalt dieser Sera zu erklären. Jene Autoren, die lediglich dem Cholesteringehalt des Serums einen Einfluß auf die Saponinhämolyse zuschreiben, und jene, die auch dem Lezithin einen Einfluß zubilligen, sind bereits einander gegenübergestellt worden. Auf die Sera Gravidar, welche in einem Viertel der Fälle gleichfalls ein abnormes Verhalten — eine anscheinende Beschleunigung oder zum mindesten nicht eine ihrem Cholesteringehalt entsprechende Hemmung — zeigen, soll hier nicht näher eingegangen werden, und es sind diese Resultate einer speziellen Publikation vorbehalten.

Wir untersuchten nun ferner, ob durch Variationen der Versuchsbedingungen, insbesondere durch Vorbehandeln der Sera durch Erhitzen, Entkolloiden und Ausschütteln die Hemmung bzw. die relative Beschleunigung der Saponinhämolyse zu beeinflussen sei. Die Untersuchungen von Sera, die vor Anstellung des Versuches verschiedenen Temperaturen ausgesetzt waren (eine halbe Stunde bei 70°, 80°, 100°), ergaben im allgemeinen eine Erhöhung der Hemmung, die bei den Normalsera gegenüber den nicht erhitzten Normalsera stärker war, als bei den erhitzten Karzinomsera gegenüber den nicht erhitzten, so daß der Unterschied zwischen dem

Karzinomserum und dem Normalserum nach dem Erhitzen noch deutlicher wurde. Bei dem Erhitzen der 10fach verdünnten Sera eine halbe Stunde auf 70° zeigte sich bei zwei daraufhin untersuchten Fällen von Anaemia perniciosa eine auffallend starke Ausflockung gegenüber den ebenso vorbehandelten anderen Sera, die schwächste Trübung zeigten in diesen beiden Versuchen die Karzinomsera. Es entspricht dieser von uns beobachtete Nebebefund der von Schade angegebenen einfachen Methode zur Untersuchung der Kolloidstabilität. Auf die klinische Verwertbarkeit dieser Methode ist bei den Verhandlungen der deutschen Naturforscher und Aerzte 1913, Bd. 2, S. 992, hingewiesen worden und es wurden dort Sera von 8 Nephritikern 8 Normalfällen gegenübergestellt, wobei von Hoefft zeigte, daß die Koagulation durch Erhitzung bei Sera von Nephritikern schon bei niedrigerer Temperatur auftritt als bei Normalsera. Wenn wir auch aus diesen beiden Beobachtungen keine weiteren Schlüsse ziehen, so sei hier dennoch auf die Möglichkeit des weiteren Ausbaues der Methode zur Differentialdiagnose zwischen Karzinom und perniziöser Anämie hingewiesen.

Es wurde nun weiter untersucht, wie sich die Sera nach Enteiweißung mit Eisenhydroxyd der Saponinhämolyse gegenüber verhalten. Dabei wurde genau die von Michaelis und Rona angegebene Vorschrift befolgt. Das auf diese Weise enteiweißte Serum zeigte ein vollkommenes Fehlen der Hemmung, doch fanden wir bei einer daraufhin angestellten Untersuchung, daß bei Ausfällung mit Eisenhydroxyd auch das Cholesterin vollkommen entfernt worden war.

Es wurde zum Schlusse noch untersucht, ob durch Ausschüttelung ebenfalls gleichsinnige Resultate, und zwar im Sinne eines Wegfalls der Hemmung, zu erzielen sind. Die Angaben in der Literatur sind auch hier divergent. Während Rosowsky und Kurt Meyer nach Aetherausschüttelung noch immer eine leichte Hemmung der Saponinhämolyse finden, gelang es Ransom und v. Eisler, die Schutzstoffe des Serums durch die Aetherausschüttelung vollständig zu beseitigen. Wir konnten durch eigene Untersuchungen diese Beobachtungen Ransoms und v. Eislers bestätigen.

Bei den Aetherausschüttelungsversuchen gingen wir folgendermaßen vor:

2 ccm Serum wurden mit 18 ccm physiol. Kochsalzlösung versetzt, dann 20 ccm Aether hinzugefügt. Dieses Gemisch wurde 10 Minuten lang geschüttelt, der Aether erst dann abgegossen, bis er klar von der übrigen Flüssigkeit war. Hierauf wurde neuerdings Aether zugesetzt, noch einmal 10 Minuten lang geschüttelt, abgegossen und neuerdings achtmal 5 Minuten hindurch mit immer erneutem Aether geschüttelt.

Auf diese Weise gelang es, auch Spuren einer Hemmung zu beseitigen. Schüttelt man kürzer oder weniger oft, so bekommt man immer noch leichte Hemmung. Aus dem Aetherextrakt wurde eine neuerliche Lipoidaufschwemmung mit physiologischer Kochsalzlösung gemacht, der Aether aus dieser durch Sauerstoffdurchleitung entfernt. Dieselbe zeigte wie bei Ransom u. a. Hemmung. Unserer Erwartung gemäß zeigte die aus den Karzinomseris erhaltene Lipoidaufschwemmung eine bedeutend geringere antihämolytische Wirkung als die aus den Normalsera gewonnene.

Es war natürlich naheliegend, daran zu denken, daß der Cholesteringehalt des Serums für den Grad der Hemmung der Saponinhämolyse maßgebend sein könnte. Wenn auch die Befunde gerade beim Serum Gravidar nicht in diesem Sinne zu sprechen scheinen, wurde trotzdem, abgesehen von der Angabe der Literatur, nach welcher Karzinomsera in der Regel einen niedrigeren Cholesteringehalt aufweisen, in einigen Fällen Cholesterinbestimmungen nach Kumagawa Suto durchgeführt. Diese ergaben im allgemeinen in Uebereinstimmung mit Bacmeister und Henes, Henes, Huffman u. a. tatsächlich einen geringeren Cholesteringehalt der Karzinomsera. Bei diesen Untersuchungen wurde ein Parallelgehen der Hemmung mit dem Cholesteringehalt der einzelnen Sera festgestellt. Daß dieses Parallelgehen nicht immer ein zwingendes ist, soll gelegentlich einer weiteren Publikation bei den Sera Gravidar gezeigt werden.

Zusammenfassung.

1) Wässrige Lezithinemulsionen hemmen die Saponinhämolyse in hohen Konzentrationen, fördern sie in mittleren Verdünnungen, in den niedrigsten Konzentrationen sind sie ohne Einfluß.

2) Karzinomsera hemmen die Saponinhämolyse weniger als Normalsera oder Sera der meisten anderen Erkrankungen.

3) Die geringere Hemmung der Sera Karzinomatöser geht anscheinend mit dem verringerten Cholesteringehalt der Karzinomsera parallel.

4) Ein gewisser Prozentsatz von Sera Gravidar scheint nicht eine ihrem Cholesteringehalt entsprechende Hemmung der Saponinhämolyse aufzuweisen.

Literatur.

- Arrhenius, Ergebnisse der Physiologie, Bd. 7, 1908, S. 480.
 Arzt und Zarzycki, Wiener klin. Wochenschr., 1914, No. 10, S. 227.
 Bacmeister und Henes, Deutsche med. Wochenschr., 1913, No. 12, S. 544.
 Balcarek, Med. Klinik, 1915, No. 42, S. 1159.
 Eisler, Zeitschr. f. exp. Path. u. Therap., Bd. 3, 1906, S. 296.
 Ferrari und Urizio, Wiener klin. Wochenschr., 1913, No. 16, S. 624.
 Frey, Inaug.-Diss. Zürich, 1907.
 Hauptmann, Med. Klinik, 1910, No. 5, S. 180.
 Henes, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 111, 1913, S. 122.
 Herz und Landsteiner, Med. Klinik, 1910, No. 27, S. 1062.
 v. Hoefft, Verhandl. der Deutschen Naturf. u. Aerzte, 1913, Bd. 2, S. 992.
 Huffmann, Centralbl. f. Gyn., 1915, S. 33.
 Izar, Wiener klin. Wochenschr., 1912, S. 1247.
 Kelling, Wiener klin. Wochenschr., 1913, No. 2, S. 57.
 Köhler und Luger, Wiener klin. Wochenschr., 1913, S. 292.
 Kumagawa Suto, Brugsch-Schittenhelm, Untersuchungsmethoden, Bd. 2, S. 770.
 Kyes, Berl. klin. Wochenschr., 1903, No. 42, 43.
 Meierstein, Arch. f. exp. Path. u. Pharmak., Bd. 62, 1910, S. 145.
 Meyer, Kurt, Hofmeisters Beitr., Bd. 11, 1908, S. 257; Arch. f. Hyg., Bd. 65, 1908, S. 293.
 Neuda, Mitteil. d. Ges. f. Inn. Med. u. Kinderheilk. Wien, 20. X. 1921.
 Noguchi, Univ. of Pennsylv. Med. Bull., Nov. 1902; Journ. of Exp., Vol. 7, p. 191.
 Pascucci, Hofmeisters Beitr., Bd. 6, 1905, S. 543 und 552.
 Port, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 99, 1910, S. 259.
 Ransom, Deutsche med. Wochenschr., Bd. 13, 1901, S. 194.
 Roffo, Depart. nat. de Hyg., Nov. 1917, No. 1.
 Rona und Michaelis, Biochem. Zeitschr., Bd. 7, 1908, S. 329; Bd. 13, S. 121; Bd. 14, S. 476.
 Rosowsky, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 16, 1913, S. 632.
 Simon, Melvin and Roche, The Journ. of exp. Med., 1909, p. 695.
 Weis-Ostborn, Med. Klinik, 1921, No. 22, S. 674.
 Wolfsohn, Arch. f. klin. Chirurgie, Bd. 102, 1913, S. 247.
 Zarzycki, Wiener klin. Wochenschr., 1913, No. 8, S. 291.

Nachdruck verboten.

[Aus der II. med. Abteilung des Krankenhauses Wieden in Wien
(Vorstand: Primarius Dozent Dr. Richard Bauer).]

Zur Theorie der Goldsol- und Mastixreaktion.

Von

cand. med. **Karl Presser** und cand. med. **Alfred Weintraub**,
Hospitanten der Abteilung.

Mit 9 Abbildungen im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. Juli 1922.)

Während in der Diagnostik des Liquor cerebrospinalis die sogenannten Kolloidreaktionen immer mehr zur Geltung kommen, ist das Wesen dieser Reaktionen noch völlig ungeklärt.

Als erste dieser Reaktionen hat Lange (1) die Goldreaktion angegeben.

Von Versuchen ausgehend, den von Zsigmondy (16) angegebenen Goldschutz des Eiweißes zur Diagnostik des Liquor cerebrospinalis zu verwenden, beobachtete Lange, daß das Serum und der Liquor Goldsol selbst zu fällen vermögen. Diese Ausfällung tritt bei verschiedenen Liquores in verschiedenen Verdünnungsgraden, welche letztere bei verschiedenen Erkrankungen des Zentralnervensystems immer dieselben sind, auf, so daß mit Hilfe der Goldreaktion eine Abgrenzung der verschiedenen Erkrankungen des Zentralnervensystems, namentlich derluetischen von den nichtluetischen, möglich sein soll. Zur Erklärung des Wesens der Reaktion nimmt Lange nebst einer Vermehrung des Gesamteiweißes eine Vermehrung bestimmter Eiweißkörper im Liquor an, und zwar wären dies Nukleoproteide, Globuline, vielleicht auch Albumosen. Auch neuerdings hebt Lange hervor, daß die Goldsolreaktion im wesentlichen der Ausdruck des Eiweißquotienten im Liquor wäre. Dieser Erklärung der Goldreaktion schließt sich eine Reihe anderer Autoren an.

Eicke (2) stellt fest, daß durch Mischung verschiedener Eiweißkörper die verschiedenen Kurventypen zustande kommen können.

Weston (3) versuchte die die Wassermann-Reaktion gebenden Substanzen des Liquors von der Goldfällenden durch die Dialyse zu trennen und kommt, trotzdem er mit dem auf Liquorvolumen eingedampften Außendialysat Goldfällung bekam, auffallenderweise zum Schlusse, daß die Goldreaktion bedingende Substanz Globulin sei. Dieser Autor zitiert Felton (4), der die verschiedenen Kurventypen durch Mischung von

durch Dialyse aus Liquores gewonnenen Globulinen und Albuminen nachahmen konnte.

Ellinger (5) bezieht das Zustandekommen des für Lues charakteristischen Typus auf ein Vorherrschen labiler Eiweißkörper imluetischen Liquor, bedingt durch den pathologischen Prozeß selbst.

Fischer (6) untersuchte das Verhalten der ausluetischen und nichtluetischen Liquores und aus Seren dargestellten Globulinfraktionen und zeigte, daß diese ebenso wie das Gesamtglobulin Goldsol fällen können. Ferner zeigte er, daß die Albuminfraktionen Goldsol völlig unverändert lassen und daß die Albumine die Goldsol vor Elektrolytflockung schützen können. Er kommt zu dem Schlusse, daß die Liquor-Goldreaktion eine Eiweißreaktion sei und gibt eine kolloid-chemische Erklärung der Flockungsvorgänge. Auf Grund seiner Untersuchungen hält er die Auffassungen von Späth, daß bei Lues und sogenannter Metalues des Zentralnervensystems die Goldflockung durch einenluetischen Reaktionskörper bedingt sei, also eine Immunitätsreaktion sei, für widerlegt; auch meint er, daß für die Neufeldsche Auffassung der Goldreaktion als einer Thrombin-Antithrombinreaktion keine beweisenden Anhaltspunkte vorliegen.

Löwy, Brandt und Mras (8) sehen in den verschiedenen Kurventypen den Ausdruck von schützenden und fällenden Substanzen, und zwar von Albumin und Globulin.

Demgegenüber nahm Zaloziecki (7) an, daß es sich bei der Goldsolreaktionluetischen Typs um eine Immunitätsreaktion handle, auch Verschiedenheit im Elektrolytgehalt des Liquors soll auf dessen Ausflockungsoptimum von Einfluß sein.

Späth (9) schließt aus der Möglichkeit, durch Digerieren des Liquors mit gekochter Meerschweinchenleber die Goldreaktion gebende Substanz aus dem Liquor zu entfernen, mit der Abspengungsflüssigkeit der Meerschweinchenleber wieder positive Goldreaktion zu erhalten, daß es sich hierbei um eine für Lues spezifische Immunitätsreaktion handle; er gibt aber zu, daß die meningitischen Typen der Goldreaktion durch den Eiweißgehalt des Liquors bedingt sein könnten. Ellinger hat dann gezeigt, daß es sich bei den Späthschen Versuchen um reine Adsorptionsvorgänge handle.

Neufeld (10) hält die Reaktion für eine Ferment-Antifermentreaktion, bedingt durch den verschieden starken Uebertritt von Thrombin-Antithrombin bei den verschiedenen Erkrankungen der Meningen.

Stern und Poensgen (11) sind geneigt, sich der Ansicht Neufelds anzuschließen und nehmen als wahrscheinlich an, daß ein in die Gruppe der Fermente gehöriger Körper in Verbindung mit der wechselnden Schutzwirkung der Eiweißkolloide die Goldfällung bewirke.

Als zweite Kolloidreaktion wurde dann von Emanuel (12) die Mastixreaktion angegeben, zu deren Erklärung im wesentlichen die über die Goldsolreaktion gebildeten Anschauungen herangezogen wurden. In neuester Zeit sind dann die Berlinerblau- und Kollargolreaktionen angegeben worden.

Da, wie die Literaturangabe zeigt, bereits verschiedene Autoren nachwiesen, daß die Kolloidreaktionen des Liquors nur der Ausdruck der Wirkung verschiedener fällender und schützender Eiweißkörper im Liquor sind, sollen die folgenden Versuche zeigen, daß dies wirklich bis ins Detail zutrifft, so weit, daß man aus quantitativen Untersuchungen der im Liquor vorhandenen und gemischten Eiweißkörper den Kurventypus des betreffenden Liquors im voraus bestimmen kann; insbesondere wird dies auch für die bis nun nicht genauer untersuchte Mastixreaktion nachgewiesen.

Bei den in der Folge geschilderten Versuchen handelte es sich für uns also darum, festzustellen, ob Eiweißsubstanzen überhaupt, und wenn dies der Fall wäre, ob quantitative und qualitative Änderungen im Eiweißgehalt des Liquors die Ursache der verschiedenen Reaktionstypen bei der Gold- und Mastixreaktion sein können; ferner, ob die sogenannten luetischen Kurventypen dieser Reaktionen durch eine spezifische Veränderung der Liquoreiweißsubstanzen bedingt seien, sei es daß diese Veränderung eine chemische wäre oder in einer kolloidalen Zustandsänderung der Eiweißkörper bestünde.

Zu der von uns angewandten Technik möchten wir kurz folgendes bemerken:

Die Goldsollösungen bereiteten wir in ähnlicher Weise, wie sie von Mgr. Schaffer (13) angegeben wurde; besonders bemerken möchten wir, daß wir nur solche Goldlösungen verwandten, die mit sicher positiven und sicher negativen Liquores auf ihre Verwendbarkeit geprüft wurden. Bei der Anstellung der Mastixreaktion bedienten wir uns der von Jacobsthal und Kafka (14) angegebenen Modifikation; die zur Verwendung gelangende Kochsalzlösung wurde durch Austitrieren in einem Vorversuch jeweils bestimmt, und je nach der Versuchsanordnung wurde entweder die erste fällende oder die letzte nicht trübende Kochsalzkonzentration gewählt.

Vorerst untersuchten wir das Verhalten der beiden Serumfraktionen, der Globulin- und Albuminfraktion, gegen Goldsol und Mastix.

Zur Darstellung der Globuline wählten wir das Dialysierverfahren. Wir dialysierten mit Wasser zur Hälfte verdünntes Serum gegen große Mengen sehr oft gewechselten, destillierten Wassers durch 24 und 48 Stunden

oder noch länger; die Dialysierhülsen wurden vorher auf ihre Eiweißundurchlässigkeit geprüft. Die bei der Dialyse ausgefallenen Globuline wurden abzentrifugiert, mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen und dann in physiologischer Kochsalzlösung zur Lösung gebracht. Wenn, wie es namentlich bei der Herstellung konzentrierter Globulinlösungen vorkam, die Lösung nicht klar war, wurden einige Tropfen einer $n/10$ K_2CO_3 -Lösung hinzugefügt. Die Globulinlösungen wurden stets frisch und unmittelbar nach der Bereitung verwendet.

Zur Darstellung der Albumine wurde Serum mit Ammonsulfatlösung halb gesättigt, vom Niederschlag abfiltriert, das Filtrat wurde gegen destilliertes Wasser so lange dialysiert, bis in demselben Ammonsulfat nicht mehr nachweisbar war, sodann wurde dieses auf physiologischen Kochsalzgehalt gebracht. Da wir die so erhaltenen Globulin- und Albuminlösungen als reine Eiweißlösungen betrachten konnten, bestimmten wir ihren Stickstoffgehalt nach Kjeldahl und berechneten durch Multiplikation mit 6,25 den Eiweißgehalt.

Wir sind uns der Schwierigkeiten der Abgrenzung der Globulin- und Albuminfraktion wohl bewußt, da ja der Uebergang beider Fraktionen ein fließender ist und, wie Moll (15) nachweisen konnte, Albumin durch Erwärmen in Globulin übergehen kann. Es wird angegeben, daß durch Dialyse von Serum Eiweißkörper ausfallen, die im Wasser unlöslich sind und nur in Salzlösungen zur Lösung gebracht werden können, und welche Globuline sind. Inwieweit an diesem Niederschlag auch andere Eiweißkörper, z. B. Nukleoproteide, beteiligt sind, läßt sich allerdings nicht entscheiden. Es wird ferner allgemein angenommen, daß durch Halbsättigung mit Ammonsulfat alle Globulinarten ausgefällt werden, so glauben wir den Rest nach dieser Fällung als Albuminlösung annehmen zu können, zumal diese Lösung völlig salzfrei beständig ist.

Folgende Versuchsanordnungen sollen nun das Verhalten der nach obiger Angabe gewonnenen Globulinlösungen gegenüber Goldsol und Mastix zeigen. Wir wählten zuerst die aus einem Wassermann-komplett-positiven Serum dargestellten Globuline. Die so gewonnene Globulinlösung

von dem Eiweißgehalt 4,8 ‰ wurde in absteigenden Verdünnungen von 1:10 bis 1:20000 in gewöhnlicher Weise mit 0,4-proz. Kochsalzlösung verdünnt und je 2,5 ccm Goldsol zu 0,5 ccm der Verdünnung zugesetzt. Unmittelbar nach dem Zusetzen des Goldsols trat bei den Verdünnungen 1:80 bis 1:320 eine Verfärbung der Röhrchen bis ins Blauviolette auf, die dann später bis ins Weiße ging. Die nächstfolgenden Röhrchen zeigten einen langsamen Anstieg in der Farbenskala, bis schließlich in den stärkeren Verdünnungen keinerlei Veränderung der Farbe zu konstatieren war. Diese Farbenveränderung zeigt ganz den Charakter derjenigen, wie sie durch pathologische Liquores verursacht wird; die Röhrchen, welche die stärkeren Konzentrationen enthielten (1:10 bis 1:40), zeigten nach zirka 10 Minuten keinerlei Veränderung, was nicht Wunder zu nehmen ist, da ja Globuline in höheren Konzentrationen, wie auch Zsigmondy (16) gezeigt hat, Goldschutz geben.

Nach einiger Zeit nimmt aber der Inhalt dieser ersten Röhrchen einen schmutzigroten, matten Farbenton an, etwas später treten makroskopisch sichtbare Körnchen auf. Nach 24 Stunden haben sich diese Körnchen zu einem rötlichen Bodensatz abgesetzt, die darüber stehende Flüssigkeit ist vollkommen entfärbt. Dieser Bodensatz kann leicht aufgeschüttelt werden und die Suspension zeigt alsdann wieder den rötlichen Farbenton. Es dürfte sich bei der eben beschriebenen Erscheinung, da ja die Globulinlösungen sehr labil sind, um das Ausfallen von Globulinteilchen handeln, die kolloidale Goldteilchen mitreißen. Im Gegensatz dazu gelingt das Aufschütteln des blauschwarzen Bodensatzes der stärkeren Verdünnungen (1:80 bis 1:320) nur sehr schwer oder gar nicht; es zeigt eben diese Flockung, wie erwähnt, ganz den Charakter der durch pathologischen Liquor hervorgerufenen Flockung.

Diese Versuche wurden des öfteren mit aus Wassermann positiven und Wassermann negativen Seris dargestellten Globulinen wiederholt. Hierbei zeigte sich stets das gleiche Verhalten und keinerlei Unterschied zwischen den aus Wassermann-positiven und Wasser-

mann-negativen Seris hergestellten Globulinlösungen.

Es zeigt sich also, daß die Globuline in einer bestimmten Konzentration Goldsol in derselben Weise ausflocken können, wie es pathologische Liquores tun. Diese Konzentration war bei allen unseren Versuchen ziemlich konstant und lag um 0,03 ‰. Eine Globulinlösung von ca. 0,5 ‰ in Verdünnungen von 1:10 abwärts angesetzt enthält bereits im ersten Röhrchen diese so wirksame Konzentration (ca. 0,05 ‰) und ruft auch in den ersten Röhrchen die charakteristische Farbenveränderung der Goldsol hervor. Es ist dies gerade auch jene Konzentration der Globuline, wie sie für die in ähnlicher Weise reagierenden, d. h. von den ersten Röhrchen an bis ins Blauweiße flockenden Paralyseliquores in Betracht kommen dürfte. Am wirksamsten erwiesen sich jene Globuline, die nach ca. 24—48 Stunden Dialyse gewonnen wurden. Bei längerer Dialyse zeigte sich, daß die Reaktionsfähigkeit der Globuline manchmal abnahm, was bei der großen Labilität derselben nicht verwunderlich erscheint.

Wir dialysierten auch Serum gegen die gleich große Menge destillierten Wassers (innen und außen mit Toluol überschichtet) 5 Tage lang und konnten im Außendialysat mit den täglich entnommenen Proben niemals eine Goldfällung erhalten. Die aus dem Innendialysat bereitete Globulinlösung reagierte im wesentlichen wie oben beschrieben.

Erwärmt man Globulinlösungen 1 Stunde lang im Thermostaten auf 60° C, so behalten sie ihre ungeschwächte Wirkung; erst bei weiterem Erwärmen durch 1 Stunde auf 75° C schwächt sich die Reaktion deutlich ab, ohne aber gänzlich zu erlöschen. Diese Beobachtung spricht wohl gegen die Annahme, daß Fermente die die Goldreaktion bedingenden Substanzen seien.

Nach dem Aufkochen verliert der Liquor wie auch die Globulinlösungen ihre Reaktionsfähigkeit völlig, was gegen die Beteiligung von Albumosen an der Goldreaktion spricht. Welche Substanzen der Globulinfraktion die wirksamen sind, und inwieweit Nukleoproteide, wie Lange annimmt, an dieser Wirkung beteiligt sind, können wir nicht entscheiden.

Setzt man die oben erwähnte 4,8 ‰ Globulinlösung mit der letzten nicht trübenden Kochsalzlösung in Verdünnungen von 1:10 aufwärts bei der Mastixreaktion an, so zeigt sich maximale Ausflockung in den ersten sechs Röhrchen; vom achten Röhrchen angefangen bleibt die Mastixlösung unverändert, d. h. lediglich opaleszent. Bei Verwendung der ersten flockenden Kochsalzlösung tritt selbstverständlich in allen Röhrchen Flockung auf, d. h. die Globuline vermögen die Kochsalzflockung der Mastixlösung nicht zu verhindern und flocken außerdem selbst.

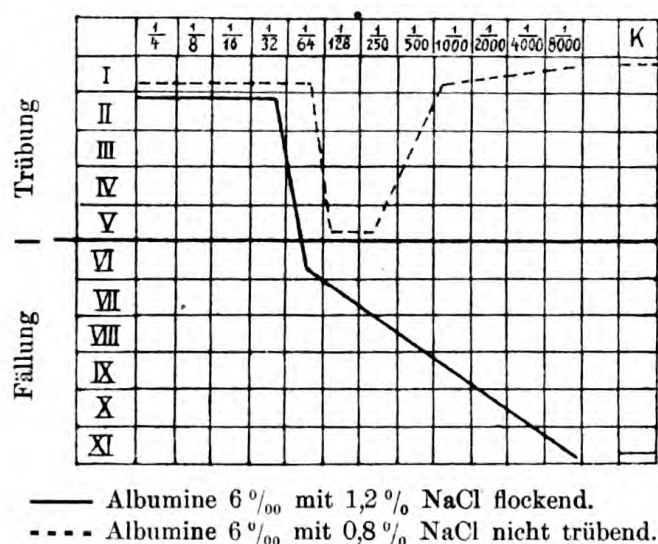


Fig. 1.

Es ergibt sich also folgender Unterschied im Verhalten der Globuline gegenüber Goldsol und Mastix. Während die Globuline bei der Goldsolreaktion nur in einer bestimmten Verdünnungsbreite (Eiweißgehalt um 0,03 ‰) die auch für pathologische Liquores charakteristische Flockung hervorrufen können, zeigen sie bei der Mastixreaktion von den höchsten Konzentrationen bis an die Grenze ihrer Wirksamkeit die charakteristische Flockung und außerdem keinerlei Schutzwirkung. Die Grenze der Wirksamkeit der Globuline liegt bei beiden Reaktionen in ziemlich derselben Verdünnung. Selbstverständlich zeigt sich auch hier bei der Mastixreaktion keinerlei Unter-

schied zwischen den aus Wassermann-positiven und Wassermann-negativen Seris dargestellten Globulinen.

Daß Albumine Goldschutz geben, hat schon Zsigmondy (16) nachgewiesen; mit 0,4-proz. Kochsalzlösung in Verdünnungen 1:10 usw. angesetzt, vermögen sie in keinerlei Konzentration die Goldsollösung irgendwie zu verändern. Das Verhalten der Albumine gegenüber Mastix zeigt Figur 1.

Es können also die Albumine die Mastix vor Kochsalzflockung schützen, und zwar bis zu einer Konzentration der Albumine um ca. 0,2 ‰, von da an tritt Flockung auf. Bei Verwendung der letzten nicht trübenden Kochsalzlösung zeigt es sich, daß diese Albumine in einer Konzentration von ca. 0,06 ‰ starke Trübung hervorrufen, d. h. aktiv wirken können.

Nach Zaloziecki (7) beträgt der Eiweißgehalt des normalen Liquors ca. 0,2–0,25 ‰, Werte über 0,3 ‰ gelten bereits als pathologisch. Selbst unter der nicht wahrscheinlichen Annahme, daß der normale Liquor nur Albumine enthielte, ergibt sich aus dem eben Gesagten, daß der normale Liquor auf Grund seines Eiweißgehaltes eine Schutzwirkung gegen die Kochsalzflockung der Mastixlösung nicht entfalten kann; denn beim Ansetzen des normalen Liquors von 1:4 befindet sich im ersten Röhrchen eine Eiweißkonzentration von ca. 0,25 ‰ : 4, das ist ca. 0,06 ‰, welche Konzentration nicht nur nicht schützend, sondern sogar leicht aktiv wirken kann. In einer früheren Arbeit konnten wir zeigen, daß die Schutzwirkung des normalen Liquors durch seinen Alkaligehalt bedingt ist (Presser und Weintraub [17]).

Wir stellten nun auch aus pathologischen Liquores durch Dialyse die Globuline dar und prüften das Verhalten der gelösten Globuline und des nach dem Abzentrifugieren der Globuline verbleibenden Restes des Innendialysates gegen Goldsol und Mastix. Diese Globuline reagieren in derselben Weise wie die aus dem Serum dargestellten; der Rest des Innendialysates, der wohl nicht gänzlich globulinfrei anzunehmen ist, zeigt gegenüber Goldsol völlig negative Reaktion. Bei der Mastixreaktion bei Verwendung der letzten nicht

trübenden Kochsalzlösung tritt beim Ansetzen des Restes in den ersten Röhrchen deutliche Flockung auf.

Wir dialysierten auch, wie es Weston (3) angibt, 5 ccm Paralyseliquor gegen 1 Liter destillierten Wassers, außen und innen mit Toluol überschichtet, durch 36 Stunden und dampften das Dialysierwasser am Wasserbade auf das Volumen des Liquors ein; dasselbe reagierte dann deutlich alkalisch, vermochte Goldsol nicht zu fällen. Bei der Mastixreaktion vermag es vermöge seines Alkaligehaltes die Ausflockung der Mastixsuspension durch flockende Kochsalzlösung zu verhindern. Die aus dem Innendialysat dargestellten Globuline reagierten trotz der langen Dialyse gegen Goldsol und Mastix ungeschwächt in der eben beschriebenen Weise.

Hatten wir so das Verhalten der einzelnen Serumfraktionen festgestellt, gingen wir nun daran, den Einfluß beider Fraktionen aufeinander zu ermitteln. In der Annahme, daß die dargestellten Globuline wohl der bei Halbsättigung mit Ammonsulfat im Liquor ausfallenden Phase I Nonnes entsprechen, die Albumine der Phase II, suchten wir bei den Mischungen von Albumin und Globulin Verhältnisse pathologischer Liquores zu imitieren. Die wie Liquor bei den Reaktionen anzusetzenden Gemische brachten wir mittels K_2CO_3 auf die von uns seinerzeit ermittelte Alkaleszenz des Liquors. Auf den Ablauf der Goldreaktion scheint diese Alkalisierung ohne Einfluß zu sein. Verwendet man aber bei der Mastixreaktion die erste flockende Kochsalzlösung, so ist die Alkalisierung notwendig, um die sogenannte negative Phase zu erzeugen; d. h. jenen Teil der Kurve, bei dem die Röhrchen (meist 5—8) lediglich trüb sind, und der die durch das Eiweiß in den ersten Röhrchen entstehende Flockung von der bei den starken Verdünnungen immer, auch bei normalen Liquores auftretenden Kochsalzflockung trennt. Durch entsprechenden Alkalizusatz konnten wir diese negative Phase stets erzeugen, während ohne diesen die Flockung eine durchgehende ist. Es ist die negative Phase also lediglich durch den Alkalizusatz hervorgerufen, wie wir auch früher zeigen konnten, daß bei Neutralisieren die negative Phase verschwindet, bei stärkerem Alkalizusatz aber verstärkt wird (Presser und Weintraub, l. c.).

Zuerst wählten wir eine Versuchsanordnung, bei der die absolute Globulinmenge der Gemische konstant blieb, und zwar 0,3 ‰, während die Albuminmenge und damit das Verhältnis der Albumin- zur Globulinmenge wechselte.

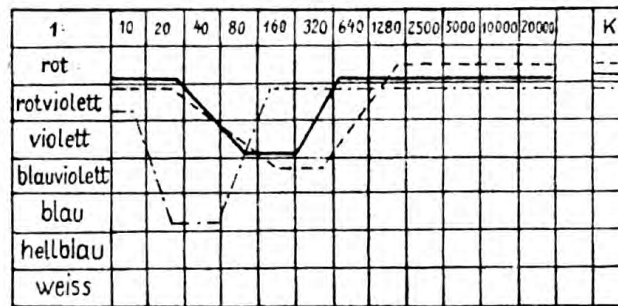
Aus den beigegebenen Kurven kann das Resultat dieser Mischungen entnommen werden. Die beigegebene Tabelle (Fig. 2) zeigt die Eiweißverhältnisse und Phase I-Reaktion dieser Mischungen an. Zur Darstellung der verschiedenen Kurven mußten wir einen höheren Eiweißgehalt verwenden, als ihn ein entsprechend reagierender Liquor zeigen würde. Es erklärt sich das daraus, daß die Wirkung der Globuline durch Dialyse abgeschwächt wird. Wohl auch aus diesem Grunde gelang es uns nicht, stark reagierende Paralysetypen nachzuahmen.

Es zeigt sich hierbei die wichtige Tatsache, daß die Albumine die Reaktionsfähigkeit der Globuline gegenüber Goldsol beeinflussen können, und zwar im Sinne eines Schutzes. Denn während eine Globulinlösung von 0,3 ‰ nativ mit Goldsol angesetzt, eine maximale Ausflockung in den ersten drei Röhrchen zeigt, ändert sich unter dem Einfluß von Albumin der Flockungstypus derselben Globulinmenge vollkommen. Es vermögen nämlich die Albumine in gewissen Konzentrationen die flockende Wirkung der Globuline zu verhindern oder abzuschwächen. Bei einer bestimmten Konzentration erlischt diese Schutzwirkung der Albumine und die flockende Wirkung der Globuline kommt zur Geltung;

| Kurve | Gesamt-Eiweißgehalt | Absolute Albuminmenge | Absolute Globulinmenge | Albumin Globulin | NonneApelt |
|-------|---------------------|-----------------------|------------------------|------------------|------------|
| A | 5.55% | 5.25% | 0.3% | 17½:1 | — |
| B | 3.3% | 3.0% | 0.3% | 10:1 | — |
| C | 1.25% | 0.9% | 0.35% | 3:1 | ± |
| D | 2.55% | 2.25% | 0.3% | 7½:1 | — |
| E | 1.8% | 1.5% | 0.3% | 5:1 | — |
| F | 1.05% | 0.75% | 0.3% | 2½:1 | — |
| G | 57% | 4.5% | 1.2% | 3½:1 | ++ |

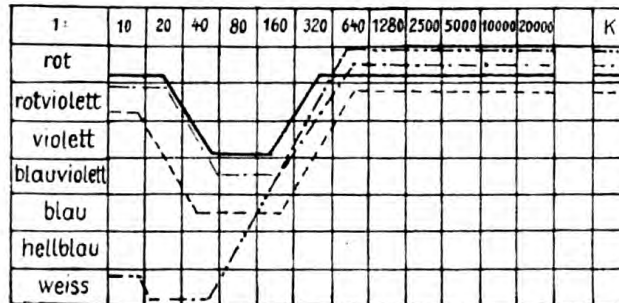
Fig. 2.

und zwar flocken sie um so stärker, in einer je höheren, also wirksameren Konzentration sie sich befinden. Selbstverständlich sind diese Konzentrationen nichts Gegebenes, sondern sind von dem verschiedenen Eiweißgehalt an Albumin und Globulin abhängig. Je größer das Verhältnis von Albumin zu Globulin bei gleichbleibender Globulinmenge ist, um so mehr verschiebt sich das



---- Kurve A, — Kurve B, -.- Kurve C.

Fig. 3.



— Kurve D, ---- Kurve E, -.- Kurve F, -.- Kurve G.

Fig. 4.

Flockungsmaximum nach rechts und um so weniger tief geht die Flockung. Ein solches Verhalten (Ueberwiegen der Albumine bei hohem Eiweißgehalt) zeigen nun die meningitischen Liquores (Eskuchen [18]); und in der Tat zeigen die Kurven A und B, bei denen dies der Fall ist, bereits Annäherung an den meningitischen Typ. Nimmt nun der Eiweißgehalt bei gleichbleibender Globulinmenge auf Kosten der Albumine ab, so erlischt die Schutzwirkung der Albumine bereits bei einer höheren Konzentration der Globuline,

bei der diese auch wirksamer sind; d. h. die Kurve verschiebt sich nach links und geht tiefer. Wir sehen jetzt die sogenannten Lues cerebri-Kurven entstehen (Kurven C, D, E). Schließlich ist bei geringem Ueberwiegen der Albumine über die Globuline bereits in den ersten Röhrchen ein Albuminschutz nicht vorhanden, die Globuline flocken in ihrer optimalen Konzentration; es tritt Weißfällung in den ersten Röhrchen auf (Kurve F). Wir sehen also aus diesem Beispiel, daß wir lediglich durch Variieren des Verhältnisses von Albumin zu Globulin bei gleichbleibender absoluter Globulinmenge verschiedene Kurventypen erzeugen konnten.

Vergleichen wir nun die Angaben über das Verhältnis der Phase I zu Phase II, so gibt Eskuchen für die Lues cerebrospinalis ein Verhältnis von 12:1, für die Paralyse ein solches von 7:3 an; diese Zahlen, die gewiß nur durch die Schätzungsmethoden des Eiweißgehaltes des Liquors gewonnen wurden, stimmen gut mit jenen Verhältniszahlen überein, wie wir sie zur Erzielung der betreffenden Kurventypen verwendeten. Besonders hervorgehoben sei, daß wir alle diese Kurventypen mit einem Globulingehalt der verwendeten Flüssigkeiten erzielten, der negative Nonne-Apelt-Reaktion gibt. Nach Zaloziecki (7) beginnt die positive Phase I-Reaktion bei 0,5 ‰ Globulingehalt. So läßt es sich erklären, warum wir trotz negativer Nonne-Apelt-Reaktion doch eine Reaktion erhalten. Gleichzeitig sehen wir, daß ein Liquor bei negativer Nonne-Apelt-Reaktion das eine Mal stark, das andere Mal schwach oder gar nicht reagiert, eben infolge des verschiedenen Verhältnisses von Albumin zu Globulin.

Kurve G ist durch eine Mischung dargestellt, die einen hohen Eiweißgehalt, 5,7 ‰, aber auch einen hohen absoluten Globulingehalt besitzt, die Mischung gibt stark positive Nonne-Apelt-Reaktion. Trotz gleichem Gesamteiweißgehalt wie bei Kurve A sehen wir eine Verschiebung des Maximums mehr nach links infolge des großen Globulingehaltes. Andererseits ist die Kurve ziemlich ähnlich der Kurve E trotz verschiedenem Eiweißgehalt. Aus diesem

Beispiel sehen wir auch, wie das eine Mal bei negativer Phase I-Reaktion (Kurve F) eine starke Reaktion, das andere Mal bei positiver Phase I-Reaktion eine schwächere Reaktion eintritt; es kommt eben auf die jeweilige Albuminmenge an. Besonders bemerkt sei, daß die von uns verwendeten Gemische stets denselben Salzgehalt, nämlich physiologischen, und stets die von uns ermittelte Liquoralkaleszenz hatten. Die Ablesung geschah stets nach 24 Stunden. Auch hier zeigten Mischungen von aus Wassermann-positiven und Wassermann-negativen Seris dargestellten Globulinen und Albuminen keinen Unterschied.

Prüft man das Verhalten dieser Mischungen bei der Mastixreaktion, so sieht man, daß den verschiedenen Kurventypen bei der Goldreaktion hier ein ziemlich gleichartiger Flockungstypus gegenübersteht (Fig. 5, 6, 7).

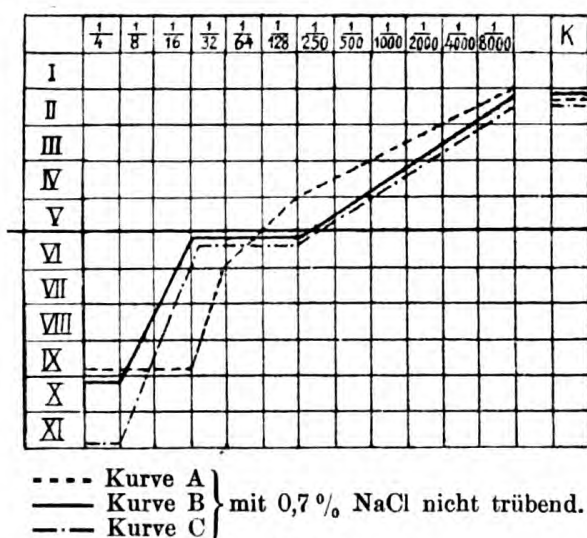


Fig. 5.

Wir zeigten früher, daß die Albumine bei der Mastixreaktion bei niederer Konzentration eine Schutzwirkung gegenüber Kochsalzflockung nicht entfalten können, ja sogar in den hier in Betracht kommenden niederen Konzentrationen leicht aktiv wirken können. So erscheint es nicht verwunderlich, daß die Albumine bei dem für diese Mischungen in Betracht kommenden Eiweißgehalt die bei der Mastixreaktion

gewiß intensivere Globulinflockung nicht verhindern können. Bei der Goldreaktion vermögen die Globuline, wie wir ja bereits früher zeigen konnten, nur innerhalb einer be-

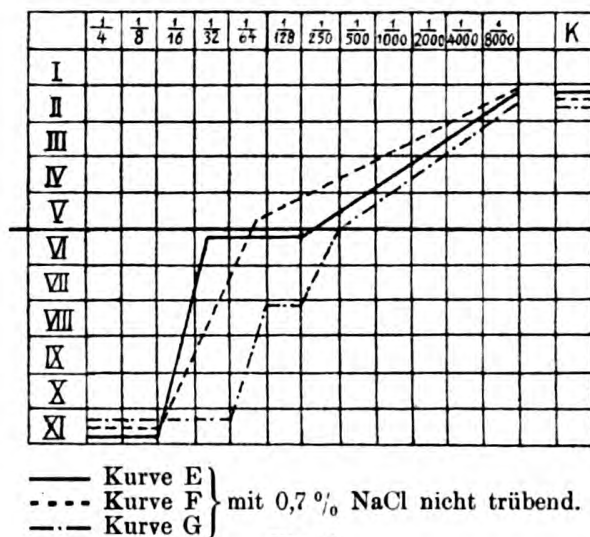


Fig. 6.

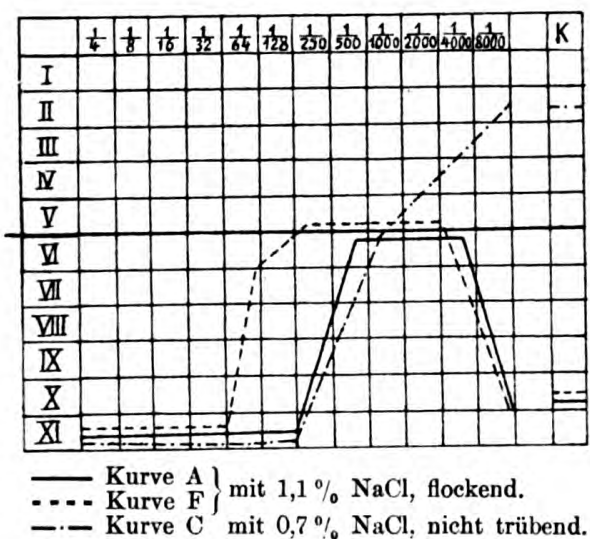


Fig. 7.

stimmten Konzentrationsbreite die charakteristische Flockung hervorzurufen, in den höheren Konzentrationen lassen sie, wie bereits erwähnt, die Goldsollösung unverändert und schützen

sie auch in gewissen Grenzen vor der Ausfällung durch fällende NaCl-Lösung (Zsigmondy, l. c.). Bei der Mastixreaktion hingegen zeigen die Globuline von den höchsten Konzentrationen bis an die Grenze ihrer Wirksamkeit die maximale Ausflockung. Bei dem für unsere Mischungen in Betracht kommenden Eiweißgehalt ist nun der verschiedene Reaktionstypus bei der Goldreaktion — Zackenbildung — vorzugsweise bedingt durch die Schutzwirkung, die die Albumine gegenüber der Globulinflockung entfalten können. Da diese Schutzwirkung bei der Mastixreaktion nicht vorhanden ist, beginnt die Flockung hier immer vom ersten Röhrchen an. Am besten läßt sich das Verhalten dieser Mischungen erkennen bei Verwendung der letzten nicht trübenden Kochsalzlösung, da hier in der Hauptsache nur die flockende Wirkung der verwendeten Flüssigkeiten zutage tritt. In der Tat sehen wir auch bei allen diesen Kurven die Flockung vom ersten Röhrchen an beginnen. Ein Unterschied zeigt sich nur insofern, als je nach dem absoluten Eiweißgehalt eine verschiedene Anzahl Röhrchen geflockt ist. Ein starkes Ueberwiegen der Albumine über die Globuline gibt sich vielleicht darin zu erkennen, daß die Flockung nicht maximal wird, oder manchmal nur das erste Röhrchen nicht maximal geflockt wird, die übrigen aber stark ausgeflockt werden, so daß hier innerhalb der Flockung eine Zackenbildung auftreten kann.

Hatten wir bis jetzt den luetischen Kurventypus studiert, so gingen wir daran, den meningitischen von denselben Gesichtspunkten aus zu betrachten. Wenn wir sehen, daß, wie bekannt, bei den akuten Meningitiden körperfremde Substanzen, wie z. B. Jod und Urotropin, von den körpereigenen Antikörper, Hämolysine [Weil und Kafka (19), Zalociecki (7)] und die Wassermann-Reagine bei nicht luetischen Meningitiden in den Liquor übertreten, wenn wir ferner sehen, daß der Eiweißgehalt desselben ein sehr hoher wird und mit dem Steigen des Eiweißgehaltes auch der Uebertritt der vorhin erwähnten Substanzen immer stärker wird, erscheint es vielleicht nicht unwahrscheinlich, daß der Liquor bei den akuten Meningitiden in seiner Zusammensetzung sich der Zusammensetzung des Serums nähert. Wir sehen ja auch,

daß der meningitische Liquor bei zunehmendem Eiweißgehalt einen immer stärkeren gelben Farbenton annimmt, was ja wahrscheinlich auch zum Teil auf dem Uebertritt von Farbstoffen aus dem Serum beruhen dürfte [Zalociecki (7)].

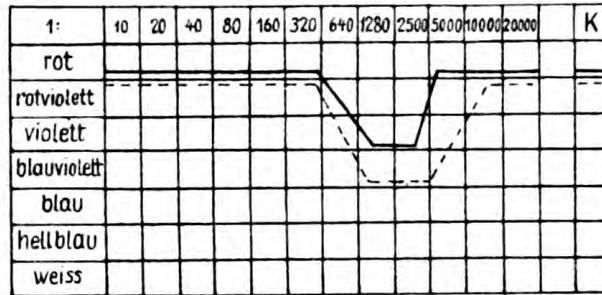
In dieser Annahme versuchten wir das Verhalten solcher Liquores von akuten Meningitiden (Meningitis tuberculosa und epidemica) durch entsprechend verdünnte Sera zu imitieren. Hier sei auch bemerkt, daß irgend ein Unterschied in der Reaktion von Wassermann-positiven oder Wassermann-negativen Seris für sich bei der Goldsol- oder Mastixreaktion nicht zu konstatieren war.

Diese Versuche seien in der Folge geschildert.

Wir bestimmten den Eiweißgehalt des Liquors einer Meningitis epidemica (durch Autopsiebefund und bakteriologischen Befund bestätigt) in folgender Weise. Eine gemessene Menge des abzentrifugierten Liquors wurde in einem Porzellanschälchen über dem Wasserbade bis zur Trockene eingedampft; der Abdampfungsrückstand wurde mit essigsaurem Wasser zur Entfernung der Salze öfters gewaschen. Daraufhin kam das Schälchen auf 24 Stunden in einen Schwefelsäureexsikkator, und dann wurde die Gewichts Differenz des Schälchens mit und ohne Abdampfungsrückstand bestimmt und daraus dann der Eiweißgehalt berechnet. Er war in dem erwähnten Falle 11 %₀₀. Eine Vergleichsbestimmung des Gesamtstickstoffes und des Reststickstoffes nach Enteiweißung nach Kjeldahl ergab 10,37 %₀₀. Dann wurde der Eiweißgehalt des Serums der Patientin refraktometrisch bestimmt und dieses sodann durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung auf den Eiweißgehalt des Liquors gebracht. Bei der Mastixreaktion zeigt dieses verdünnte Serum dieselbe Kurve wie der Liquor (Fig. 9). Bei der Goldreaktion ist die Lage des Flockungsmaximums dieselbe, nur geht die Kurve etwas tiefer (Fig. 8). Dasselbe Verhalten konnten wir noch des öfteren bei Meningitis tuberculosa beobachten.

Eine Bestimmung des Verhältnisses von Albumin zu Globulin bei diesen Liquores war, so interessant es auch gewesen wäre, wegen der geringen uns zur Verfügung stehenden Mengen von Liquor nicht möglich. Im Serum beträgt das Verhältnis von Albumin zu Globulin 1,5 : 1 bis 2,3 : 1 [Ham-

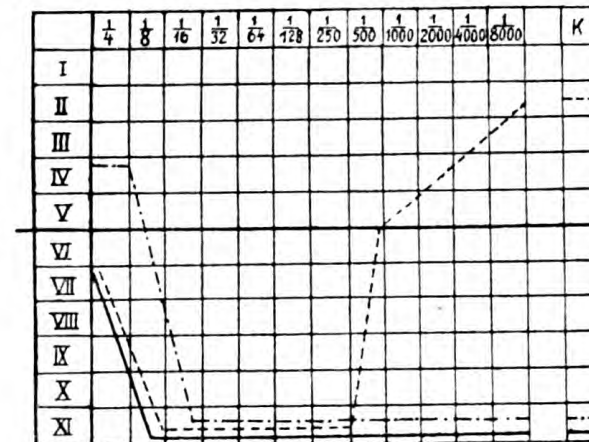
marsten (20), Lewinsky (21), Hofmann (22), Rohrer (23)]. Wenn auch in den meningitischen Liquores das Verhältnis kein so niedriges sein dürfte, so ist jedenfalls anzu-



— Liquor einer Meningitis tbc. 11 ‰.

- - - Serum derselben Pat. auf den Eiweißgehalt des Liquors gebracht (11 ‰).

Fig. 8.



— Liquor einer Meningitis tbc. 11 ‰ mit 1,2 ‰ NaCl, flockend.

Das Serum der Pat. auf den gleichen Eiweißgehalt gebracht (11 ‰),
ergab dieselbe Kurve.

- - - Liquor 11 ‰ mit 0,8 ‰ NaCl-Lösung, nicht trübend.

— Liquor einer Meningitis tbc. 18,5 ‰ mit 1,2 ‰ NaCl, flockend.
Das Serum der Pat. auf 18,5 ‰ gebracht, ergab dieselbe Kurve

Fig. 9.

nehmen, daß sich bei der Angleichung der Zusammensetzung des Liquors an das Serum das Verhältnis sich doch mehr zu gunsten der Globuline verschieben dürfte. Wir hätten dann bei den meningitischen Liquores einen ziemlich

hohen absoluten Globulingehalt, wofür ja auch die stark positive Phase I-Reaktion spricht. Versuche, auch diese Liquores durch Mischen von Albumin und Globulin nachzuahmen, scheiterten daran, daß es unmöglich war, so hoch konzentrierte Globulinlösungen, wie sie hierfür erforderlich wären, darzustellen.

Auf Grund obiger Erwägungen können wir immerhin das Zustandekommen der meningitischen Kurventypen, wie folgt, zu erklären versuchen. Der absolute Globulingehalt dieser meningitischen Liquores ist sicher ein so hoher, daß er in den ersten Röhrchen bei der Goldreaktion diese nicht verändern wird. Aber selbst wenn wir ein Verhältnis von Albumin zu Globulin mit 3:1 annehmen, so würde bei einem Liquor von 18 ‰ der absolute Globulingehalt 4,5 ‰ betragen; diese Globulinlösung müßte nach den oben geschilderten Versuchen ihr Flockungsoptimum bei einer Verdünnung von 1:160 haben, und doch liegt das Flockungsoptimum eines solchen Liquors erst bei einer Verdünnung von 1:1280. Diese Verschiebung nach rechts läßt sich nur dadurch erklären, daß die Albumine bei der Konzentration, bei der die Globuline ihre optimale Flockung zeigen sollten, noch imstande sind, diese zu unterdrücken. Bei den nächstfolgenden Verdünnungen hört diese Schutzwirkung der Albumine auf und es kommt nun zur Flockung durch die Globuline. Aus dem eben Gesagten ist es auch leicht verständlich, warum die maximale Flockung der meningitischen Liquores nur bis ins Blaue geht; da eben die fällende Wirkung der Globuline erst nach ihrem Flockungsoptimum zur Geltung kommt. Es ist weiter auch erklärlich, daß von zwei Liquores mit dem gleichen Eiweißgehalt, bei verschiedenem absoluten Globulingehalt, der Liquor mit dem größeren Globulingehalt eine tiefere Zacke zeigen wird. Darauf dürfte es auch zurückzuführen sein, daß das Serum mit gleichem Eiweißgehalt wie der Liquor eine tiefere Kurve zeigt als dieser; es ist eben hier das Verhältnis von Albumin zu Globulin ein niedereres.

Die Bedingung für das Zustandekommen des meningitischen Kurventypus ist also ein hoher Gesamt-

4*

eiweißgehalt mit starker Beteiligung der Globuline. Im Beginne der meningitischen Erkrankung wird der Liquor noch nicht diesen hohen Eiweißgehalt haben und kann sogar den sogenannten luetischen Flockungstyp zeigen. Einen solchen Fall hatten wir Gelegenheit, zu untersuchen; es war das eine otogene Meningitis (durch Autopsie bestätigt), wo am Beginn des Prozesses das Lumbalpunktat eine typische luetische Kurve zeigte. Bei zunehmendem Eiweißgehalt im Verlaufe der Erkrankung verschiebt sich dann das Flockungsoptimum immer mehr nach rechts [Eicke (2)].

Bei der Mastixreaktion zeigen die meningitischen Liquores je nach ihrem Eiweißgehalt verschiedene Reaktionstypen. Bei hohem Eiweißgehalt (über 11 ‰) vermögen auch hier die Albumine die Flockung der Globuline zu verhindern. Bei Verwendung der flockenden Kochsalzlösung sind dann das erste, oder bei höherem Eiweißgehalt auch das zweite Röhrchen lediglich trübe, während in dem nächstfolgenden eine Flockung auftritt, die sich immer mehr verstärkt, schließlich komplett wird und bis ans Ende der Verdünnungen anhält; es verschwindet also hier die negative Phase, und zwar deshalb, weil in den für sie in Betracht kommenden Verdünnungen noch so viel flockende Substanz vorhanden ist, daß der Alkalischutz aufgehoben wird. Verwendet man die letzte nicht trübende Kochsalzlösung, dann sind die letzten Röhrchen lediglich trüb, es resultiert also hier eine Zacke. Bei etwas niederem Eiweißgehalt (5—11 ‰) ist im ersten Röhrchen der Albumin-gehalt nicht so groß, um die Flockung zu verhindern; es tritt bereits im ersten Röhrchen Flockung auf, die durchgehend ist. Ist der Eiweißgehalt noch niedriger, so ist bereits das erste Röhrchen maximal geflockt, und es tritt auch die negative Phase wieder auf, es resultiert also auch hier wieder eine Kurve von luetischem Typus. Dies konnten wir in dem bereits oben erwähnten Falle einer früh punktierten otogenen Meningitis beobachten, wo der Eiweißgehalt des Liquors 1,6 ‰ war. Die Nachahmung der meningitischen Liquorkurve durch das auf den jeweiligen Eiweißgehalt des meningitischen Liquors gebrachte Serum gelingt hier im Gegensatz zur Goldsolreaktion vollkommen.

In einer vor kurzem erschienenen Publikation meint auch Goebel (24), daß die verschiedenen Kurventypen bei der Mastixreaktion durch zwei in ihrem Verhältnis zueinander variierenden Komponenten zustande kommen; diese beiden Komponenten wären die den Paralysetyp und den Blutserumtyp bedingenden. Flüssigkeiten, die nach dem Paralysetyp reagieren, sind nach Goebel dadurch ausgezeichnet, daß sie positive Weichbrodt-Reaktion bei schwacher Phase I-Reaktion geben, während die nach dem Blutserumtyp reagierenden Flüssigkeiten negative Weichbrodt-Reaktion bei stark positiver Phase I-Reaktion geben. Er nimmt nun an, daß die Weichbrodt positive Substanz des Liquors durch Zerfall von Nervengewebe entstehe (Organschädigung), die Weichbrodt negative, aber Phase I positive aus dem Blutserum stamme. Es wird nun allgemein angenommen, daß die Weichbrodt-Reaktion ebenso wie die Phase I-Reaktion im allgemeinen Globuline nachweise; da ist es nun allerdings auffallend, daß das Serum bei seinem hohen Globulingehalt negative Weichbrodt-Reaktion gibt. Es ist dies aber darauf zurückzuführen, daß bei Halbsättigung mit Ammonsulfat (Phase I) bei jedem Eiweißgehalt die Globuline ausgefällt werden, während die Sublimatreaktion in dem Mengenverhältnis, wie es von Weichbrodt angegeben wurde, nur bei einem bestimmten Eiweißgehalt die Globuline ausfällen kann. Daß dies der Fall ist, läßt sich aus folgendem klar ansehen. Bringt man das Serum in absteigende Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung, so wird die Phase I-Reaktion naturgemäß immer schwächer, während bei einem bestimmten Eiweißgehalt die Weichbrodt-Reaktion auch im Serum positiv wird. Es ist also gewiß eine im Serum vorhandene Substanz, die die positive Weichbrodt-Reaktion gibt. Ist der Eiweißgehalt einer Serumverdünnung eines Exsudates oder eines Liquors so hoch, daß er negative Weichbrodt-Reaktion gibt, so reagieren sie auch nach dem für Flüssigkeiten mit hohem Eiweißgehalt charakteristischen oben beschriebenen Meningitistyp. Serumverdünnungen, Exsudate und Liquores von niedrigem Eiweißgehalt sind Weichbrodt-positiv und reagieren nach dem Paralysetyp. Wir sind also daher

der Meinung, daß eine positive Weichbrodt-Reaktion nicht auf eine Organschädigung schließen läßt. Es zeigt diese Reaktion lediglich die Anwesenheit von Globulinen in einem bestimmten Eiweißgehalt an. Die Abhängigkeit der Mastixreaktion von der Weichbrodt-Reaktion bestätigt gewiß unsere Annahme, daß der Gesamteiweißgehalt und der mit ihm wechselnde Globulingehalt die verschiedenen Kurventypen bedingen.

Versuchen wir auf Grund obiger Beobachtungen den Mechanismus der Goldsol- und Mastixreaktion zusammenfassend zu schildern.

Der normale Liquor läßt Goldsol infolge des geringen Eiweißgehaltes völlig unverändert. Bei der pathologischen Goldsolreaktion stehen zwei Grundtypen einander gegenüber: Derjenige mit dem Ausfällungsmaximum am Beginne der Verdünnungen, also links, sogenannter luetischer Typ, und der mit dem Ausflockungsmaximum rechts, der meningitische Typ. Für das Zustandekommen des Typus mit dem Ausflockungsmaximum links ist im allgemeinen ein niedriger Eiweißgehalt notwendig; je nach der Beteiligung der Globuline an diesem Eiweißgehalt kommen die verschiedenen Varianten dieses Typus zustande. Niedriger Eiweißgehalt mit starker Globulinbeteiligung (Albumin zu Globulin = 7:3) bewirkt eine Ausflockung vom ersten Röhrchen an (Paralysetyp). Niedriger Eiweißgehalt mit geringerer, aber noch starker Beteiligung der Globuline bewirkt geringe Veränderung im ersten und starke im dritten und vierten Röhrchen (Tabes, tiefe Lueszacke). Verschiebt sich das Verhältnis von Albumin zu Globulin bei niederem Eiweißgehalt stark zugunsten der Albumine (Albumin zu Globulin = 14:1), so resultiert mäßig starke Flockung im vierten Röhrchen bei unveränderten ersten Röhrchen (Lueszacke). Diese letztere Flockungsart kann auch bei Liquores mit etwas höherem Eiweißgehalt (jedoch unter 3 ‰) zustande kommen, wenn die Albumine über die Globuline überwiegen.

Bedingung für den meningitischen Flockungstyp ist hoher Eiweißgehalt mit starker Beteiligung der Globuline bei geringem Ueberwiegen der Albu-

mine; je nach der Höhe des Eiweißgehaltes liegt das Flockungsmaximum mehr rechts oder links, je nach der Beteiligung der Globuline höher oder tiefer. Zwischen dem Linkstypus und dem Rechtstypus besteht, wie aus dem Vorhergesagten hervorgeht, ein fließender Uebergang (Meningitis im Verlaufe der Erkrankung). Insofern als die Lues des Zentralnervensystems und der Meningen erfahrungsgemäß jene Veränderungen im Eiweißgehalte des Liquors hervorruft, wie sie für das Zustandekommen des Linkstypus notwendig sind, ist es berechtigt, von einemluetischen Flockungstypus zu sprechen. Es muß aber jede andere Krankheit, die imstande ist, dieselben Liquorveränderungen hervorzurufen, dieselben Kurventypen ergeben. Anderer Autoren und unsere Erfahrungen mit Liquores von multipler Sklerose, Urämie, Tumor cerebri, Meningitis im Frühstadium usw. bestätigen dieses theoretische Postulat. Umgekehrt kann wieder eine akuteluetische Meningitis einen so hohen Eiweißgehalt im Liquor verursachen, daß er nach dem meningitischen Typ reagiert. Auch diese Annahme wird bestätigt durch eine jüngst erschienene Publikation eines Falles vonluetischer Meningitis (Bock, 25). Allein auf Grund eines nachluetischem Typ reagierenden Liquors ist man also gewiß nicht berechtigt, die Diagnose einerluetischen Erkrankung des Zentralnervensystems zu stellen.

Im Verein mit der Phase I, die bei negativem Ausfall zeigt, daß ein bestimmter minimaler Globulingehalt nicht vorhanden ist, bei positivem Ausfall einen gewissen Minimalgehalt an Globulin nachweist und darüber hinaus eine Schätzung des absoluten Globulingehaltes erlaubt, gestattet uns die Goldsolreaktion, Schlüsse über den Gesamteiweißgehalt und die Beteiligung der Globuline an diesem zu ziehen.

Auch bei der Mastixreaktion können wir zwei Grundtypen unterscheiden: Der erste, sogenannteluetische Typ, ist dadurch ausgezeichnet, daß bei Verwendung der ersten flockenden Kochsalzlösung die ersten Röhrchen maximal geflockt sind und daß diese Flockung der ersten Röhrchen von der am Schlusse auftretenden Kochsalzflockung durch

die negative Phase getrennt ist. Für das Zustandekommen dieses Typus ist Bedingung, ein niederer Eiweißgehalt unter 4 ‰ bei Anwesenheit von Globulinen.

Die verschiedene Beteiligung der Globuline an diesem Eiweißgehalt drückt sich im Gegensatz zur Goldsolreaktion hier nicht aus. Die Flockung der Globuline ist bei jeder Konzentration immer dieselbe, nämlich eine maximale, und kann bei dem hier in Betracht kommenden Eiweißgehalt durch die Albumine nicht beeinflusst werden. Dies erklärt, warum wir im Gegensatz zur Goldsolreaktion wesentliche Varianten des luetischen Typus nicht beobachten können.

Der zweite Typ ist der sogenannte meningitische Typ, der dadurch gekennzeichnet ist, daß bei Verwendung der ersten flockenden Kochsalzlösung die ersten Röhrchen (1—2) trüb oder gering geflockt sind, hierauf eine Flockung eintritt, die sich immer mehr verstärkt, maximal wird und durchgehend ist; die negative Phase fehlt also. Diesen Typ geben Flüssigkeiten mit über 5 ‰ Eiweißgehalt bei starker Beteiligung der Globuline. Im Gegensatz zur Goldreaktion läßt also die Mastixreaktion nur einen Schluß über den jeweiligen Eiweißgehalt zu und daß an diesem Eiweißgehalt Globuline beteiligt sind; in welchem Verhältnis die Globuline beteiligt sind, ist daraus nicht zu ersehen. Daß bei der Mastixreaktion der luetische und der meningitische Typ noch leichter als bei der Goldreaktion durch andere Erkrankungen des Zentralnervensystems und der Meningen zustande kommen kann, ist aus dem oben Gesagten leicht verständlich.

Vorstehende Versuche zeigen also, daß durch Mischung von Globulin und Albumin sich die Kurven der Kolloidreaktion im allgemeinen und auch im Spezialfall imitieren lassen; daß daher die Kolloidreaktionen des Liquor keine qualitativen, sondern rein quantitative sind und daher keinen spezifischen Charakter tragen. Für die klinische Verwertbarkeit dieser Kolloidreaktionen ergibt sich daraus, daß bei den voll ausgebildeten Krankheitsbildern, wo die quantitativen Verhältnisse der Eiweißkörper im Liquor

doch ziemlich konstant sind, diese Reaktionen als sozusagen spezifisch, besser gesagt, charakteristisch gelten können. Aber dieselben quantitativen Veränderungen des Eiweißgehaltes des Liquors können auch in Ausnahmefällen, insbesondere bei den nichtspezifischen Erkrankungen des Zentralnervensystems auftreten, so daß die Kolloidreaktionen aus diesem Grunde nur mit Vorsicht und koordiniert mit den übrigen Symptomen und Befunden verwertet werden sollen. Spezifisch reagierende Eiweißkörper, wie z. B. Wassermann-positive Globuline, werden mit den Kolloidreaktionen nicht nachgewiesen.

Zusammenfassung.

1) Bei der Goldsolreaktion vermögen aus Seren wie aus Liquor dargestellte Globuline die für pathologische Liquores charakteristische Flockung nur innerhalb einer bestimmten Konzentrationsbreite — von 0,05 ‰ angefangen — hervorzurufen; und zwar eine Flockung, die von maximaler beginnend mit abnehmender Konzentration allmählich schwächer wird und schließlich aufhört.

2) Bei der Mastixreaktion zeigen diese Globuline von den höchsten Konzentrationen bis an die Grenze ihrer Wirksamkeit maximale Flockung.

3) Ein Unterschied zwischen aus Wassermann-positiven und Wassermann-negativen Seren hergestellten Globulinen besteht nicht.

4) Albumine vermögen bei der Goldsolreaktion selbst keine Veränderung hervorzurufen; sie schützen Goldsol vor Elektrolytflockung und vermögen die Flockung der Globuline zu hemmen.

5) Bei der Mastixreaktion vermögen bei hohen Konzentrationen die Albumine die Kochsalzflockung zu verhindern; bei niederen Konzentrationen (0,06 ‰) wirken sie selbst leicht aktiv. Die Globulinflockung vermögen die Albumine hier nur bei ganz hohem Eiweißgehalt zu verhindern.

6) Die sogenannten luetischen Kurventypen lassen sich bei der Goldsol- und Mastixreaktion durch Mischung von Albumin und Globulin in einem bestimmten Verhältnis nachahmen; ein Unterschied von Albuminen und Globulinen, aus

Wassermann-positiven und Wassermann-negativen Seren gewonnen, zeigt sich hierbei nicht.

7) Die meningitischen Kurventypen lassen sich bei der Mastixreaktion völlig, bei der Goldsolreaktion teilweise durch auf Liquor-Eiweißgehalt gebrachtes Serum nachahmen.

Literatur.

- 1) C. Lange, Berl. klin. Wochenschr., 1912.
— Zeitschr. f. Chemotherapie, Bd. 1, 1913, Heft 1.
— Klin. Wochenschr., 1922, Heft 21.
- 2) Eicke, Münch. med. Wochenschr., 1913, No. 49; 1919, No. 37.
- 3) Weston, Americ. Journ. of Insanity, 1921, 76.
- 4) Felton, zitiert nach Weston.
- 5) Ellinger, Hoppe-Seyler, Bd. 116, 1921, 5—6.
- 6) Fischer, Deutsche Zeitschr. f. d. ges. exp. Med., Bd. 14, 1921, S. 60.
- 7) Zalociecki, Deutsche Zeitschr. f. Nervenheilk., Bd. 47—48, S. 783.
— Arch. f. Hyg., Bd. 80, 1—6.
- 8) Löwy, Brandt und Mras, Med. Klinik, 1921, No. 7 u. 8.
- 9) Späth, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 23, 1915, S. 427.
- 10) Neufeld, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26, Heft 4.
- 11) Stern und Poensgen, Berl. klin. Wochenschr., 1920, No. 12, 13, 27.
- 12) Emanuel, Berl. klin. Wochenschr., 1915.
- 13) Schaffer, Wiener klin. Wochenschr., 1919, No. 42.
- 14) Jacobsthal und Kafka, Hamb. Aerztekorresp., 1916.
— — Berl. klin. Wochenschr., 1918.
- 15) Moll, Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Path., Bd. 4, 1903, S. 563.
- 16) Zsigmondy, Zeitschr. f. analyt. Chemie, 1901.
— und Schultz, Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Path., Bd. 3, 1903, S. 137.
- 17) Presser und Weintraub, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1921, Heft 4/5, S. 317.
- 18) Eskuchen, Lumbalpunktion, 1919.
- 19) Weil und Kafka, Wiener klin. Wochenschr., 1911, No. 10.
- 20) Hammarsten, Pflügers Arch. f. Phys., Bd. 17, 1878, S. 460.
- 21) Lewinsky, Pflügers Arch. f. Phys., Bd. 100, 1903, S. 611.
- 22) Hofmann, Arch. f. exp. Path. u. Therapie, Bd. 16, 1883, S. 138.
- 23) Rohrer, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 121, 1917, S. 221.
- 24) Goebel, Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 30.
- 25) Bock, Med. Klinik, 1922, No. 11.

Nachdruck verboten.

[Aus der Medizinischen Universitätsklinik Leipzig (Direktor:
Geheimer Medizinalrat Prof. Dr. v. Strümpell).]

**Zur theoretischen Bewertung der mit den Serum-
Eiweißfraktionen angestellten Versuche über die Wasser-
mannsche Reaktion.**

Von

Dr. H. Oeller und Dr. M. Schierge,
Oberarzt der Klinik. Assistent der Klinik.

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. Juli 1922.)

Nach der Entdeckung der Komplementablenkungsreaktion bei der Syphilis hat man versucht, den spezifischen Träger der Reaktion, den „Antikörper“, zu isolieren. Man fand in ähnlicher Weise, wie bei anderen Antikörpern, die spezifische Wirkung an bestimmte Eiweißfraktionen gebunden. Als später durch Sachs und seine Mitarbeiter die Anschauung zur Geltung kam, daß weniger ein bestimmter Antikörper im Sinne der Strukturchemie, als vielmehr eine in bestimmter Weise veränderte Stabilität der Eiweißkörper des Serums für den positiven Ausfall der Reaktion maßgebend sei, glaubte man, diese Stabilitätsänderungen bestimmten Eiweißfraktionen — dem Globulin bzw. dem Euglobulin zusprechen zu müssen (1).

Zweifellos werden Stabilitätsänderungen des Serumeiweißes sich an den gröbst dispersen Anteilen, also an den an sich schon relativ wenig stabilen Globulinen, am sinnfälligsten bemerkbar machen. Indessen läßt sich eine so scharfe, bestimmten Fraktionen entsprechende Abgrenzung, wie sie von den Autoren angestrebt wurde, nicht aufrecht erhalten. Zunächst läßt sich das Einteilungsprinzip des Serumeiweißes in Fraktionen zurzeit nicht mehr in seiner starren Form rechtfertigen. Außerdem ist die allgemein angewandte Methodik der Fraktionierung, die ursprünglich für das genuine, verdünnte Serum ausgearbeitet war, beim unverdünnten,

inaktivierten Serum mit Fehlern verknüpft. Schließlich sind die Rückschlüsse aus dem Verhalten der durch Aussalzen etc. gewonnenen Eiweißlösungen nur in bedingter Weise erlaubt.

Die frühere, strenge Einteilung des Serumeiweißes in Fraktionen ist von mehreren Autoren verlassen worden. Sachs und von Oettingen schreiben (in Anlehnung an Herzfeld und Klinger), „daß die einzelnen Eiweißfraktionen des Blutes sich im wesentlichen durch physikalisch-chemische Merkmale, den Dispersitätsgrad ihrer Teilchen, unterscheiden und von der labilsten Fibrinogenstufe über das Globulin ein allmählicher (2) Uebergang zu den stabilen Albuminen besteht . . . “. In der Tat sind auch gewisse Definitionen, die früher als strenge Unterscheidungsmerkmale der Globulinfraktionen unter sich sowie der Globuline gegenüber den Albuminen galten, hinfällig geworden. Es gibt wasserlösliche Globuline, das Pseudoglobulin (Markus), nach Hammersten sollen überhaupt alle Globuline wasserlöslich sein, sofern sie nur genügend von anhaftenden Stoffen, wie Lecithin, Seifen etc., gereinigt würden. Andererseits soll aus Albumin in der Wärme Globulin „entstehen“, das bezüglich seiner Fällbarkeit durch Dialyse und Neutralsalze die gleichen Eigenschaften wie das native Globulin aufweist. Untersucht man ferner Seren mit Konzentrationsreihen von Ammoniumsulfat, so findet man ohne scharfe Uebergänge die Globulinfällbarkeit mit steigender Konzentration zunehmen — alles Schwierigkeiten, die dazu geführt haben, Konzentrationsintervalle für die Einzelfraktionen aufzustellen, neue Unterfraktionen zu isolieren, jedoch ohne zu präzisen Definitionen zu gelangen.

Allerdings hat Abderhalden (in älteren Arbeiten) (3) Analysen von Albumin und Globulin des Pferdeserum ausgeführt und gewisse quantitativ chemische Differenzen gefunden. Inwieweit das auch für menschliches Serum zutrifft, steht dahin. Die Unterschiede, die man bei der Elementaranalyse bez. bei der Bestimmung des Schwefelgehaltes fand, wurden bereits in früherer Zeit von Mörner zurückhaltend beurteilt, da die Albumin- und Globulintrennung mit Schwefelsäure bez. Sulfaten vorgenommen wurde und die Möglichkeit einer nachträglichen Schwefelbindung an das Eiweiß bestand. Allerdings sprechen sich neuerdings Doerr, Landsteiner u. a. auf Grund ihrer Immunisierungsversuche mit den Einzelfraktionen

dahin aus, daß auch geringe strukturelle Differenzen zwischen den Einzelfraktionen bestehen. Jedoch fügen sie noch besonders hinzu, daß zwischen den Einzelfraktionen in dieser Hinsicht sicherlich auch fließende Uebergänge vorhanden sind.

Soweit diese kurzen Hinweise, die im allgemeinen zugunsten der oben zitierten Auffassung von Sachs und von Oettingen sprechen.

Wie erwähnt, hat man in der Wärme (und zwar schon nach halbstündigem Erwärmen auf 56°) eine erhebliche Umbildung von Albumin in „Globulin“ beobachtet (Moll, 4; Starke, 5), nach unserer Auffassung vielleicht durch Alterationen der kolloiden Eigenschaften des Albumins (= hochdisperse Eiweißanteile), welches dann teilweise unter den gleichen Bedingungen ausflockt wie die gröberdispersen, die „Globuline“, ohne daß besondere strukturelle Veränderungen angenommen zu werden brauchen. Jedenfalls verbietet diese Tatsache, hitzeinaktiviertes Serum auszusalzen, um daraus allgemeine Schlüsse zu ziehen, die für das native Serum gültig wären. Ein solches „Globulin“ des inaktiven Serums ist nicht quantitativ das „Globulin“ des aktiven Serums, sondern Globulin + ein gewisser Teil des Albumins. Diese Feststellung von Moll erwähnt übrigens Friedemann (6), ohne sie weiter zu verfolgen. Er, sowie neuerdings Kapsenberg (7) nahmen im Verlauf ihrer Versuche Abstand von der CO₂-Spaltung und der Dialyse, da bei dieser Methode die Albumine noch einen Teil des Globulins enthielten (das Pseudoglobulin). Sie wollten eine genaue Trennung des Globulins von Albumin durch Halbsättigung mit Ammoniumsulfat herbeiführen, tauschten dabei aber den Nachteil ein, daß sie nicht nur das gesamte Globulin, sondern auch noch einen Teil des Albumins mitausfällten. Sofern man auf Grund der Aussalzungsmethode überhaupt noch eine strenge Unterscheidung von Albumin und Globulin aufrecht erhalten will, so ist diese von Hofmeister und seinen Schülern für das native Rinderserum ausgearbeitete Methode für das hitzeinaktivierte Serum unbrauchbar; somit ist es auch Kapsenberg nicht gelungen, mit einer quantitativ genauen Albumin- und Globulinmenge zu arbeiten, worauf er in seiner Arbeit besonderen Wert legt.

Stößt die quantitative Gewinnung des ursprünglich nativen Globulins aus dem inaktiven Serum auf Schwierigkeiten, so erst recht die Bestrebungen, Unterfraktionen des Globulins (Euglobulin) zu gewinnen. Von Hofmeisters Schülern wurde festgestellt, daß die Ausflockung von Globulinen bei einem um so geringeren Sättigungsgrad mit Ammonsulfat eintritt, je höher der Prozentgehalt der betreffenden Lösung an Globulin ist. Wie stark der Einfluß ist, zeigen folgende Zahlen (Freund und Joachim, 10): Enthalten 100 ccm physiologische Kochsalzlösung 0,5 Proz. Ovoglobulin, so beginnt die Flockung nach Hinzufügen von 16,1 g Ammonsulfat, enthalten dagegen 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung 6 Proz. Ovoglobulinlösung, so fängt das Eiweiß bereits nach Hinzufügen von 11,8 g Ammon. sulf. an, auszuflocken¹⁾. So schreibt denn auch Morawitz (8) (in Erwähnung der Untersuchungen von Reye): „Die Fällung mit Ammon. sulf. hat in stark verdünntem Plasma zu geschehen, da sonst die Grenzen der Fraktionen miteinander kollidieren.“ Nach Morawitz sollen 4 ccm Plasma (Serum) mit physiologischer Kochsalzlösung auf 20 ccm vor der Aussalzung aufgefällt werden. Für das Euglobulin gibt er einen Konzentrationsintervall von 30—37 Proz. (!) Ammoniumsulfatsättigung für ein so verdünntes Serum an.

Verfolgt man nun einmal in der Literatur, wie manche Autoren bei ihren Untersuchungen über Antikörpergehalt von Eiweißfraktionen verdünntes Serum nahmen, Friedemann, Kapsenberg unverdünntes, so muß man zugeben, daß der Begriff Euglobulin überhaupt nicht mehr eindeutig ist, bei Friedemann aber sicher etwas anderes darstellt, als was Hofmeister gemeint hat. Ähnliche Bedenken betreffen die Spaltung des inaktiven Serums mit CO₂. Man braucht nur schätzungsweise die Menge des ausfallenden „Euglobulins“ im aktiven und inaktiven Serum miteinander zu vergleichen, um den Unterschied zu erkennen. Hier ist es übrigens umgekehrt als beim Gesamtglobulin. Im inaktiven Serum fällt weniger Euglobulin aus als im aktiven.

1) Ob diese Tatsachen vielleicht eine gewisse Beziehung zu der Feststellung von Sachs haben, wonach unverdünntes Serum sich besser inaktivieren läßt als verdünntes? Geht doch die Inaktivierung mit einer Dispersitätsvergrößerung (= beginnende Flockung) Hand in Hand.

Wollte man wirklich genau nach Vorschrift die Salzfallung in entsprechend verdünntem Serum vornehmen, so besteht wiederum die bekannte Schwierigkeit der nachträglichen Inaktivierung in verdünnten Lösung. (nach unserer Auffassung richtiger: die Herstellung des kolloiden Zustandes, der beim konzentrierten Originalserum eintritt; denn die Komplementwirkung ist ja durch das Spalten bereits aufgehoben). Vorheriges Einengen erfordert zu viel Zeit. Dadurch können noch allerlei unkontrollierbare Veränderungen durch das Altern der Lösung hinzukommen.

Schließlich sind überhaupt Aussalzungsverfahren, Dialyse, und bis zu einem gewissen Grade auch die CO_2 -Spaltung als solche sehr fragwürdige Eingriffe in den physiologisch-chemischen Aufbau des Serumeiweißes. Von der Dialyse, die nach der Salzfallung immer angewandt werden muß, gilt das sicher. Das wird schon in der älteren Literatur erwähnt und wird bereits dadurch gekennzeichnet, daß man die Globuline bei der Wiederauflösung nur in trüber Lösung bekommt. Kapsenberg mußte, wie er selbst schreibt, immer einige Oesen einer schwachen Lauge zufügen, um klare Lösungen zu erhalten. Ferner ist die Schädigung des Diphtherieantitoxins durch Dialyse bekannt.

Hier sei auch an Bestrebungen aus früherer Zeit erinnert, die Antikörper durch wiederholtes Umfällen mit Ammon. sulf. etc. von anhaftenden Eiweißstoffen zu „reinigen“. In Wirklichkeit ist die „Reinigung“ niemals gelungen, wohl aber verloren die Immunkörper dabei ganz erheblich an Wirksamkeit; denn man hatte die hochkomplizierte, physikalisch-chemische Struktur des Eiweiß-Antikörper-Komplexes, welche diese feinen biologischen Reaktionen zur Voraussetzung haben, mehr oder weniger zu Tode gesalzt.

So können durch Aussalzen, abgesehen von der an sich schon fehlerhaften Fraktionierung hitzeinaktivierter, konzentrierter Seren, auch noch Abschwächungen der spezifisch komplementablenkenden Eigenschaften eintreten (vergleiche die unten vergleichsweise angestellten Versuche). Außerdem können neue, unspezifische komplementbindende Eigenschaften hinzutreten, so daß die ursprünglichen Verhältnisse mehr oder weniger verwischt zum Ausdruck gelangen. Auf derartige unspezifische Hemmungen von Globulinlösungen im Wassermannschen Versuch hat neuerdings wieder Sahlmann hingewiesen. Welch scheinbar geringfügige Eingriffe übrigens genügen, um unspezifische Hemmung hervorzurufen, beweisen die Arbeiten von Forssman, die schließlich zu dem Ergebnis führten,

daß geringste Spuren gewöhnlichen Aethers einem negativen Serum vor seiner Hitzeinaktivierung zugesetzt, diesem komplementbindende Fähigkeit bei der WaR. verleihen.

Auch sei hier nochmals auf die Dialyse hingewiesen, die, wie gewöhnlich, nur einige Tage ausgeführt, niemals eine völlige Befreiung von den Salzionen bewirken kann, da das Eiweiß eine große Menge Ionen adsorbiert und nur sehr langsam wieder in Lösung gibt. Will man Eiweiß wirklich salzfrei bekommen, so müßte man (unter den Kautelen der Sterilität) die Dialyse auf 6 Wochen (Schade, 9) ausdehnen, und zwar gegen fließendes, destilliertes Wasser. Ob dabei wirklich alle durch Aussalzen künstlich zugefügten Ionen entfernt werden, ist auch noch zweifelhaft, da zum Teil auch festere chemische Bindungen eingetreten sein können (vgl. die oben erwähnten Bedenken von Mörner).

Ist es somit ausgeschlossen, das Serumeiweiß in seiner ursprünglichen Form wiederzugewinnen, und zieht man auf der anderen Seite in Betracht, wie geringfügige Eingriffe komplementablenkende Eigenschaften die WaR. abschwächen oder verstärken können, so muß man die bisher gewonnenen Versuchsergebnisse, die die Beteiligung der verschiedenen Serumeiweißfraktionen bei der WaR. klarzulegen versuchen, mit Zurückhaltung beurteilen. Vor allem kann man nicht wissen, bis zu welchem Grade die Albumine (also diejenigen höher dispersen Eiweißkörper, die im nativen Serum bei Halbsättigung mit Ammon. sulf. nicht mit ausfallen) im positiven Sinne mitbeteiligt sind.

Hier sei auch an ältere Untersuchungen erinnert, wonach man Immunkörpergehalt bestimmten Fraktionen, besonders nur den Globulinen, zusprechen wollte, während andere Autoren Immunkörper auch in der Albuminfraktion fanden (Winterberg, Vidal und Sicard). Bei der Nachprüfung von einem Typhusimmunserum fand der eine von uns auch ausgesprochene agglutinierende Eigenschaften der Albuminfraktion (dargestellt nach den Regeln Hofmeisters).

Vielleicht ist es erlaubt, die bisherigen Versuchsergebnisse mit Berücksichtigung der erörterten Schwierigkeiten etwas allgemeiner zu formulieren: Denkt man sich, wie anfangs erwähnt, das Serumeiweiß als ein System, in welchem von grob dispersen Teilchen der Reihe nach zahlreiche Uebergänge

bis zu den feindispersen vorhanden sind, so ist der positive Ausfall der WaR. mit ihren verschiedenen Stärkegraden davon abhängig, wie weit die Labilisierung der Eiweißteilchen (durch die Infektion) vor sich ging, und davon wiederum abhängig, wie viele der ursprünglich nicht komplementbindenden Teilchen, ja vielleicht ursprünglich die Komplementbindung abschwächende Teilchen nun auch komplementbindend wurden. Hand in Hand damit erfährt die Zahl der die Komplementbindung „verhindernden“ Teilchen eine Verminderung. Somit wäre der positive Ausfall der WaR. der Ausdruck einer Zunahme der komplementbindenden Teilchen zu Ungunsten der die Komplementbindung verhindernden Teilchen, d. h. der Ausdruck einer Verschiebung des ursprünglichen Antagonismus. Ein Fraktionieren würde hier ein Schematisieren bedeuten.

Zum Schluß seien noch einige Versuchsergebnisse angefügt, die zeigen sollen, wie verschieden die Komplementbindungsreaktion mit Einzelfraktionen normaler und syphilitischer Seren ausfallen kann. Die in den voranstehenden Ausführungen entwickelten Bedenken, diese als wohlabgegrenzte Gruppen anzusehen und sie den entsprechenden Fraktionen Hofmeisters gleichzusetzen, gelten selbstverständlich auch hier. Es soll nur gezeigt werden, daß Eiweißanteile verschiedener Seren, genau unter den gleichen Bedingungen jedesmal hergestellt, durchaus keine Parallelismen im Ausfall der Komplementbindungsreaktion zu zeigen brauchen, daß ferner die nachträgliche Zusammensetzung von „Albumin“ und „Globulin“ keine entsprechende Addition oder Subtraktion der Wirkung zu zeigen braucht.

Einzelheiten der bekannten Trennungsmethoden sollen nicht nochmal angeführt werden; nur sei erwähnt, daß die Seren noch am Tage ihrer Entnahme inaktiviert und das Fraktionierungsverfahren in Angriff genommen wurde. Die Dialyse wurde 2 Tage gegen strömendes Wasser in genau geprüften Pergamenthülsen und einen Tag gegen mehrfach gewechseltes destilliertes Wasser vorgenommen.

(Auf Wiedergabe von Versuchstabellen muß aus wirtschaftlichen Gründen verzichtet werden.) Es stellte sich heraus, daß die durch CO_2 -Spaltung und Dialyse gewonnenen Eiweißanteile vielfach auch bei Normalseren stark hemmten, also

eine „unspezifische“ Reaktion gaben, bei der Fraktionierung mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ trat meist — auch bei stark positiven Seren — eine Abschwächung ursprünglich positiver Reaktionen ein. Auch nachträgliches Zusammenfügen der entsprechenden Fraktionen ergab bei positiven Seren eine geringere Komplementbindung, als das ursprüngliche positive Serum, es bestehen also keine einfachen Additionsverhältnisse.

Es wurden auch „Kreuzungsversuche“ angestellt, indem z. B. die „Albumin“fraktion eines luetischen Serums mit der durch entsprechende Darstellungsmethode gewonnenen „Globulin“fraktion eines Normalserums zusammengefügt wurde und umgekehrt. Auch hier war die Addition und Subtraktion der Wirkung ganz unberechenbar. Wenn z. B. die durch CO_2 gewonnene Globulinfraktion eines positiven Serums mit der entsprechend gewonnenen Albuminfraktion eines Normalserums zusammengefügt worden war, so fiel hiermit die Komplementbindungsreaktion positiv aus, während sie bei den durch Dialyse gewonnenen, entsprechend zusammengefügten Fraktionen negativ ausfiel, u. a. m.

Weiterhin ist noch über einige Versuchsergebnisse zu berichten, bei denen das Serum aktiv gespalten wurde, die Fraktionen in ihrer entsprechend verdünnten Lösung nachträglich „inaktiviert“ wurden.

Das nachträgliche „Inaktivieren“ wirkte im allgemeinen stark herabsetzend auf die Komplementbindungsfähigkeit, jedoch ziemlich willkürlich bei den einzelnen Fraktionen.

Schließlich wäre noch über sehr zahlreiche Versuche aus früherer Zeit zu berichten. Dort zeigte sich bei der Kohlen-säurespaltungsmethode, daß meistens die stärkere positive Reaktion in den „Albuminen“ vorhanden ist; diese Versuche erstrecken sich sowohl auf die WaR. als auch auf die Sachs-Georgische Reaktion. Derartige Ergebnisse wurden ja auch öfter von anderen Autoren erzielt; wir verzichten auf die Wiedergabe von Einzelheiten.

Im allgemeinen zeigen alle Versuche, daß die Rolle unter gleichen Bedingungen hergestellter Serumeiweißanteile bei der Komplementbindung erheblich schwanken kann, daß sich schwer wirklich genaue Gesetzmäßigkeiten finden lassen. Auch

lehren die Kreuzungsversuche, daß es sich bei gegenseitigem Verstärken und Abschwächen der Globulinfraktion durch die Albuminfraktionen nicht um einfache Addition und Subtraktion der Wirkung handelt. Verminderung der ursprünglichen spezifischen Komplementbindungsfähigkeit, Hinzutreten von unspezifischer Komplementbindung, infolge der erlittenen Alteration durch die Fraktionierung, mögen wohl in jedem einzelnen Fall, wie im voranstehenden erörtert wurde, die Wirkung entsprechend beeinflussen.

Anmerkung bei der Korrektur: Neuerdings verglich Rondoni (diese Zeitschr., Bd. 34, H. 5) das Drehungsvermögen zwischen normalen und syphilitischen Seren. Er fand auch Unterschiede zwischen den Albuminfraktionen. Das spricht auch für die Auffassung, daß in syphilitischen Seren alle Eiweißkörper eine Veränderung erlitten haben, nicht nur die Globuline.

Zusammenfassung.

1) Die Eiweißfraktionen des Serums sind nicht scharf voneinander abzugrenzen; ihre Darstellung ist von den verschiedenen Autoren nicht immer unter den gleichen Bedingungen erfolgt. Einer bestimmten Fraktion die komplementbindende Wirkung zusprechen zu wollen, stößt auf Schwierigkeiten.

2) Eigene Versuchsergebnisse werden geschildert.

Literatur.

- 1) Ausführliche Angaben dieser bekannten Arbeiten sollen unterbleiben.
- 2) von uns gesperrt.
- 3) Abderhalden, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 37, S. 495 und Bd. 44, S. 17.
- 4) Moll, Hofmeisters Beiträge, Bd. 4, 1903, H. 2.
- 5) Starke, Zeitschr. f. Biol., Bd. 40, 1900, S. 419.
- 6) U. Friedemann, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 67, 1910, S. 279.
- 7) Kapsenberg, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31, 1921, S. 301.
- 8) Morawitz, in Oppenheimers Hdb. d. Bioch., II, 2, S. 79.
- 9) Schade, Die phys. Chemie i. d. inn. Med., 1920, S. 37.
- 10) Freund und Joachim, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 36, S. 407.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg
(Direktor: Prof. Dr. Selter).]

Beziehungen zwischen Ernährungszustand und Komplementgehalt beim Meerschweinchen.

Von Privatdozent Dr. **W. E. Hilgers**,
Assistent des Instituts.

(Eingegangen bei der Redaktion am 16. Juli 1922.)

Die Bedeutung der Schwankungen des Komplementgehaltes frisch entnommenen Meerschweinchenblutes liegt vor allem in dem Einfluß der Komplementmenge bzw. der Komplementkraft auf die Spezifitätsbreite der Wassermannschen Reaktion. Kaup¹⁾, Selter²⁾ u. a. haben nachgewiesen, daß die Variabilität des Komplementgehaltes des Meerschweinchen-serums den eigentlich schwankenden Wert im hämolytischen System darstellt, wobei nicht zu vergessen ist, daß die Hämolysen für die Sichtbarmachung der Komplementwirkung nur ein recht grobes Reagens darstellt und auch nichts über die Art der Komplementwirkung (siehe weiter unten) aussagt. Die Ursache dieser Schwankung begegnet geringerem Interesse, da im Gegensatz zu den Immunkörpern des Serums ein gleichbleibender Gehalt des Blutes an Komplement wenigstens beim Menschen angenommen wird [Brinkmann³⁾]. Die Ausschläge der durch das hämolytische System sichtbar gemachten Schwankungen sind sowohl nach oben wie nach unten ziemlich klein. Als normal kann man etwa einen Wert von 0,01 ccm bei gewöhnlicher Bluteinheit und vierfachem Ambozeptorüberschuß annehmen. Werte bis zu 0,1 ccm sind selten, ebenso die geringen Werte unter 0,008 ccm. Vollkommen komplementfreie Sera habe auch ich in meinen Versuchen nie gefunden. Ueber die Ursache der in der Technik der Wassermann-Reaktion tief eingreifenden Komplementschwankungen

1) Arch. f. Hygiene, Bd. 87.

2) Münch. med. Wochenschr., 1918, S. 788.

3) Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 52.

finden sich in der Literatur nur spärliche Angaben. Die häufigsten Ursachen der Komplementschwankung: Art der Serumaufbewahrung, Zeitspanne zwischen Entnahme und Bearbeitung, Methodik der Blutentnahme können außer Betracht bleiben, da hierbei die Aenderung des Komplements außerhalb des Tierkörpers vor sich geht. Wichtiger und für meine Untersuchungen von besonderer Bedeutung sind jene Ursachen, die man als im Tierkörper gelegen ansehen muß; das wären vor allem Alter und Geschlecht des Tieres, Art der Fütterung, ebenso die Trächtigkeit.

Baumgärtel¹⁾ rät, vorwiegend Grünfutter zu verabreichen, ein Hinweis, den auch Margarete Stern²⁾ in einer Fußnote aufnimmt, da sie einen Anstieg des Komplementtiters bei veränderter Fütterung beobachtet. Mehrfach wird auch ein Zurückgehen des Komplements im Winter und Frühjahr erwähnt, was wohl den meisten Untersuchungsstellen nicht unbekannt ist. Kaup³⁾, der den Komplementgehalt des Meerschweinchenserums an einer großen Anzahl von Tieren über eine längere Zeitspanne hinaus genau ausgewertet hat, findet ein deutliches Absinken des Titors zur Winterszeit, führt allerdings dieses Absinken auf die veränderte Aufbewahrung des Serums zurück. Loew⁴⁾ nimmt als Ursache der von ihm gefundenen jahreszeitlichen Schwankungen die große sommerliche Hitze und die große Winterskälte, der die Tiere in Zentralasien ausgesetzt waren, als Ursache an. Daß kranke Tiere, besonders die chronisch kranken, eine Herabsetzung der Komplementkraft aufweisen, ist bekannt. Die unter den Tieren vielfach wütende Pseudotuberkulose spielt hierbei eine große Rolle. Dagegen kann durchweg ein guter Gesundheitszustand als Vorbedingung normaler Komplementkraft angenommen werden.

Allerdings ist nach den Beobachtungen Hintzes⁵⁾, welcher nachwies, daß im Komplement vollkommen gesund erscheinender Meerschweinchen, die nach dem Sektionsergebnis mit Pseudotuberkulose behaftet waren, Stoffe auftreten, die die lösende Kraft des Komplements nur beim Zusammenbringen mit Extrakt und Serum erheblich herabsetzen, die lösende Kraft des Komplements im System allein nicht

1) Baumgärtel, Die staatlichen Bestimmungen über die Ausführung der Wassermannschen Reaktion. München, Lehmanns Verlag, 1922.

2) Marg. Stern, Zeitschr. f. Immunitätsf., Abt. I, Orig., Bd. 32, Heft 2.

3) l. c.

4) Loew, Wiener klin. Wochenschr., 1922, No. 1; Ref. in Deutsche med. Wochenschr., 1922, No. 5.

5) Hintze, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 84, 1920.

verändern, daran zu denken, daß die durch das hämolytische System sichtbar gemachten Komplementschwankungen in verschiedenen Möglichkeiten ihre Ursache haben können. Es kann sowohl einfach die lösende Kraft des Komplements herabgesetzt sein, es kann aber auch in der Maßeinheit der noch unbekannte Komplementstoff geringer vorhanden sein, und andererseits ist es möglich, daß im Serum Stoffe auftreten, die antikomplementär wirken und die vielleicht vorhandene Wirkung des Komplements verdecken, oder umgekehrt Stoffe, die die Wirkung des Komplements verstärken, ohne selbst an das Komplement gebunden zu sein. Es ist also sicher, daß zwischen dem Gesundheitszustand des Tieres und der Komplementkraft — ausgedrückt durch den Titer seiner hämolytischen Wirkung — ein Zusammenhang besteht. Es wurde nun versucht, den Zustand des Tieres zu zergliedern, um zu prüfen, ob vielleicht ein besonderer Faktor für die Ursache der Schwankung der Komplementkraft in Frage kommt. Es wurde bei allen Tieren, die zur Wassermannschen Reaktion gebraucht wurden, die Komplementdosis festgelegt, wobei zur Bestimmung des Komplementtiters nach der Definition von K a u p als Komplementeinheit diejenige kleinste Menge eines aktiven Meerschweinchenserums genommen wurde, die für die völlige Lösung der jeweiligen Bluteinheit bei einem bestimmten Ueberschuß an Immunsérum erforderlich war.

Zum Gesamtvolumen nahm ich 2,5 ccm bei normaler Bluteinheit mit vierfachem Ambozeptorüberschuß, Ablesung nach halbstündigem Verweilen im Wasserbade. Die äußeren Verhältnisse blieben bei allen Versuchen an den verschiedenen Tagen gleich. Die Meerschweinchen wurden früh morgens vor der Fütterung getötet, sofort nach Erstarren des Blutes wurde das Sérum abgenommen und bis zur Untersuchung gegen 11 Uhr vormittags im Frigo aufbewahrt. Alle Ursachen, die, wie eingangs erwähnt, außerhalb des Tierkörpers liegen, wurden so möglichst ausgeglichen. Ebenso wurde darauf geachtet, daß Alter, Geschlecht, eventuell Trächtigkeit, Fütterungsart und Menge, Temperatur des Stalles und des Monats berücksichtigt wurden. Die Fütterung blieb stets die gleiche: Heu, Hafer, Wruken. Die Tabelle I umfaßt daher Alter, Geschlecht, Gewicht der Tiere und den Sektionsbefund. Der Sektionsbefund wurde in zwei Teile geteilt: 1) in das eigentliche Sektionsergebnis, ob sich pathologische Veränderungen, die auf bestimmte Krankheiten hindeuten, ergeben oder nicht; 2) in eine Ernährungszustandsbestimmung, die dadurch ziemlich schwierig war, als hier sub-

Tabelle I. (Kranke Tiere.)

| Tier No. | Gewicht g | Alter (Monate) | Sektionsbefund | Netztgewicht auf 100 g | Ernährungszustand, Netztgewebe | Ernährung | Durchschnitt der Temperatur des Monats draußen (A.) und Durchschnitt der Stalltemperatur (St.) | Monat der Untersuchung | Titer |
|----------|-----------|----------------|---|------------------------|---|--------------------|--|------------------------|--------|
| 1 | 430 | 7 | ausgebreitete Tbk., Leber, Lunge Knötchen | 0,2 | geringe Fettabbildung, stark abgemagert | Heu, Wruken, Hafer | + 8,0° (A.) + 8,0° (St.) | Oktober | 0,03 |
| 2 | 280 | 6 | ausgebreitete Tbk., Leber, Lunge Tbk.-Knötchen | 0,14 | geringes Fett, stark abgemagert | dgl. | + 8,9° (A.) + 11,0° (St.) | " | 0,04 |
| 5 | 420 | 7 | Follikel vergrößert, derbe glasige infiltriert. Herde, Lungespeckig. | 0,35 | mäßig fett | dgl. | - 1,3° (A.) + 7,0° (St.) | November | 0,0125 |
| 6 | 320 | 7 | Lunge derbe, kleine, infiltriert, anscheinend tbk. Herde | 0,25 | zieml. mageres, wenig fettreiches Tier | dgl. | - 1,3° (A.) + 8,0° (St.) | " | 0,017 |
| 7 | 360 | 7 | Lunge zahlreiche Tbk.-Herde, Leber frei, Bronchialdrüsen frei, großer verheilte Abszess | 0,2 | stark abgemagertes, sehr wenig fettreiches Tier | dgl. | - 1,3° (A.) + 8,0° (St.) | " | 0,02 |
| 9 | 218 | 5 | ganz schwache Tbk., kleine Knoten | 0,4 | ziemlich fettes Tier | Heu und Wruken | - 1,3° (A.) + 6,0° (St.) | " | 0,011 |
| 10 | 220 | 5 | Leistendrüse linsengroß, im Unter- und Mittellappen vereinzelte kleine Knötchen | 0,4 | reichliche Fettablagerungen | dgl. | - 1,3° (A.) + 6,0° (St.) | " | 0,011 |
| 26 | 450 | 7 | beginnende Hepatisation d. Lunge, Leber kleine Knoten | 0,2 | nicht besonders fettreich | Heu, Wruken, Hafer | - 3,0° (A.) + 10,0° (St.) | Dezember | 0,021 |
| 53 | 320 | 6 | Tbk., kleine Knötchen in d. Lunge, Milz deutlich vergrößert | 0,3 | mager | dgl. | - 4,2° (A.) + 7,0° (St.) | Februar | 0,008 |
| 84 | 510 | 7 | zieml. starke Tbk., derbe infiltrierte Inguinaldrüse, Lunge o. B. | 0,35 | zieml. mager, jedoch reichl. Fettablag. | dgl. | + 6,0° (A.) + 12,0° (St.) | Mai | 0,014 |

jektivem Ermessen weiter Spielraum blieb. Da die Fettablagerung im Netz mit den übrigen Fettdepots im Organismus ziemlich parallel gehen, eine Vergrößerung des Netzgewichtes fast ausschließlich durch Fettablagerungen bedingt ist, so wurde das Netzgewicht mit dem Gewicht des Tieres in Zusammenhang gebracht, um ein objektives Urteil über den Ernährungszustand zu gewinnen. Man kann als Mittelwert für das Gewicht des Netzes, bezogen auf 100 g Meerschweinchen, einen Betrag von 0,3 g annehmen, wenigstens ist das die Größe, die an einem Dutzend normal genährter Meerschweinchen als Mittelwert gefunden wurde. Auf Grund des Netzgewichtes habe ich die Tiere mit einem Netzgewicht unter 0,3 auf 100 g als in schlechtem Ernährungszustand, die Tiere mit 0,3 auf 100 g als normal und die über 0,3 g als in sehr gutem Ernährungszustand bezeichnet.

Untersucht wurden im Zeitraum von Oktober 1921 bis Mai 1922 87 Tiere, die nach keinem besonderen Gesichtspunkt ausgelesen waren. Unter diesen befanden sich 10, die zu anderweitigen Versuchen mit humanen Tuberkelbazillen infiziert waren und die teils in beginnender, teils in fortschreitender Tuberkuloseerkrankung sich befanden. Diese 10 tuberkulösen Tiere seien als kranke Tiere zuerst gesondert behandelt (s. Tabelle I).

Bei den fortgeschrittenen tuberkulösen Tieren war der Titer deutlich bei 2 Tieren herabgesetzt. Er betrug zwischen 0,03 bis 0,04 ccm. Ein Tier, ebenfalls mit nach dem Sektionsergebnis weit vorgeschrittener Tuberkulose, aber noch in gutem Ernährungszustand, besaß noch seinen normalen Komplementtiter von 0,01. Die übrigen 7 Tiere mit beginnender Tuberkulose teilten sich deutlich in zwei Gruppen: 4 Tiere (No. 5, 9, 10, 84) in noch ziemlich gutem Ernährungszustand hatten einen Komplementtiter von 0,01 bis 0,015, 3 stark abgemagerte Tiere (No. 7, 1, 2) einen Titer von 0,017 bis 0,02. Die Schwankungen sind gering, zeigen aber doch, daß ein guter Ernährungszustand trotz fortgeschrittener Infektion mit einer nicht herabgesetzten Komplementkraft einhergeht.

Normal ernährte Tiere: 27 normal gleichmäßig genährte Tiere aus den verschiedenen Jahresmonaten Oktober bis April mit einem Netzgewicht von 0,3 g auf 100 g Meerschweinchen hatten einen Durchschnittskomplementgehalt von 0,01 ccm. Es sind nur 2 Tiere, welche durch eine herabgesetzte lösende Dosis von 0,015 und 0,014 auffielen. 10 von den 27 Tieren hatten unter 0,01; etwa bei 0,009 ccm. Die übrigen 17 einen Titer von 0,01¹⁾.

Ein Zusammenhang zwischen Monatstemperatur bezüglich der Jahreszeit und dem Komplementtiter ließ sich nicht feststellen (s. Tabelle II).

Selbst in den kalten Wintermonaten, wo auch die Temperatur des Stalles meist nur + 5—6° betrug, ist von einem merklichen Absinken des Komplementgehalts nicht die Rede.

1) Die Tabellen sind nur im Auszug wiedergegeben.

Tabelle II.

| Jahreszeit | Zahl der Tiere | Mittlere Monatstemperatur | Komplementtiter |
|------------|----------------|------------------------------|-----------------|
| Januar | 15 | — 6,8° | 0,011 |
| Februar | 15 | — 4,2° | 0,090 |
| März | 12 | + 1,1° | 0,010 |
| April | 16 | + 5,7° | 0,010 |
| Mai | — | — | — |
| Juni | — | — | — |
| Juli | — | — | — |
| August | — | — | — |
| September | — | — | — |
| Oktober | — | — | — |
| November | 16 | — 1,3° | 0,011 |
| Dezember | 13 | — 3,0° | 0,012 |

Was die Tiere in einem besonders guten Ernährungszustande anbetrifft — es handelt sich um 23 Tiere mit einem Nettogewicht von 0,35 bis 0,5 g auf 100 g Meerschweinchen — so war ihr Komplementtiter nicht erheblich anders als bei den normalen Tieren. Er betrug durchschnittlich 0,009. Bemerkte sei noch, daß auch diese Untersuchungen in der Zeit vom 1. Oktober bis 1. April ausgeführt wurden.

Dagegen war auffallend, daß 27 gesunde, aber magere Tiere mit einem Nettogewicht unter 0,3 g, deren Sektion keinerlei Anhaltspunkte für eine Erkrankung ergab, einen deutlich herabgesetzten Komplementtiter aufwiesen. Er betrug durchschnittlich 0,015. Alle hatten einen Titer über 0,01, mit Ausnahme von 2 Tieren.

Werden die Tiere (die kranken sollen hier außer Ansatz bleiben) nach ihrer Titerhöhe eingeteilt, so erhalten wir folgendes Ergebnis:

Bei einem Titer von

| | | | | | | | |
|------------|----------|--------|--------|--------|---------|--------|--|
| unter 0,01 | 32 Tiere | 6,2 % | magere | 31,3 % | normale | 62,5 % | Tiere in gutem Ernährungs- zustande. |
| um 0,01 | 11 " | 27,3 " | " | 72,7 " | " | 0 " | |
| über 0,01 | 34 " | 64,6 " | " | 26,5 " | " | 8,9 " | |

Hiernach scheint zwischen Ernährungszustand und Komplementtiter ein deutliches Zusammentreffen zu sein. Bereits Kaup erwähnt, daß der Titer vor oder nach andauerndem Hunger schwanken kann. Ob aber ein unmittelbarer Zusammenhang besteht, sei nicht eher festgelegt, als bis durch die weiteren begonnenen Versuche an hungernden und überernährten Tieren ein genauerer Einblick gewonnen ist.

Für die Immunkörper beobachtete schon 1903 P. Th. Müller¹⁾ eine verminderte Bildung von Immunkörpern bei

1) P. Th. Müller, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 34, 1903.

Hungertieren und eine deutliche Abnahme der Schutzstoffe gegenüber Dysenteriebazillen, *Vibrio Metschnikoff* und *Proteus*. Diese Untersuchungen sollen jetzt auf das Komplement ausgedehnt werden.

Beim Menschen ist bis jetzt der Komplementgehalt als gleichbleibende Größe angenommen worden im Gegensatz zu den Immunkörpern, bei denen eine Steigerung durch Injektion körperfremder Stoffe, durch Lichtbestrahlung (Hesse) und Röntgenstrahlen (Bruck) möglich ist. Daß Komplement und Immunkörper sich bei Aenderung des Normalzustandes des Organismus verschieden zu verhalten scheinen, zeigten Friedberger und Bettac¹⁾, die bei Kaninchen mit durch Fieberstich künstlich erzeugten hohen Temperaturen im Gegensatz zu einer Steigerung des Ambozeptorgehalts keinerlei Einfluß der Temperaturschwankung auf den Komplementgehalt des Blutes fanden. Die Untersuchungen werden ja auch noch dadurch kompliziert, daß es sich vielleicht weniger um Schwankungen des Komplements handelt, als vielleicht um das Auftreten von Stoffen, die die komplementbindende Kraft des Meerschweinchenserums hemmen oder diese steigern. Die oben erwähnten Untersuchungen von Hintze scheinen dieser Annahme eine Stütze zu geben.

Halten wir solche Beziehungen zwischen Komplementgehalt und Ernährungszustand auch bei dem Menschen für möglich, so eröffnen sich damit weitere Ausblicke, in die noch zum Teil unerforschten Zusammenhänge zwischen Infektion und Ernährungszustand. Es ist möglich, daß mit dem Absinken der Immunkörper auch eine Aenderung der Komplementkraft einhergeht.

Wir wissen, daß gegenüber der Infektion der unterernährte Organismus verschieden sich verhält. Die Erreger meist langsam verlaufender, Siechtum erzeugender Krankheiten, wie z. B. Tuberkulose, pflegen bei ungenügender Ernährung leichteres Spiel zu haben als bei guter; während die Wirkung der Erreger akut fieberhafter Prozesse, wie z. B.

1) Friedberger und Bettac, Zeitschr. f. Immunitätsf., Abt. I, Orig., Bd. 12.

Influenza, darauf ohne Einfluß sind. Von ihr wissen wir aus dem Jahre 1918, daß sie mit dem Ernährungszustand in keiner Weise in Zusammenhang zu bringen war, erfuhren aber aus der Kriegszeit, z. B. aus der Arbeit von Kruse und Hintze¹⁾, daß die Kaloriendeckung durch eine ausreichende Ernährung am wichtigsten ist, und sehen aus der Arbeit von Selter und Nehring²⁾, daß mit sinkender Kalorienzufuhr ein Anstieg der Tuberkulosesterblichkeit einherging, die verschwand, als die Kalorienzufuhr anstieg. Zur Erklärung dieser Erscheinung, die auszudeuten nicht leicht ist, dürfte vielleicht der Zusammenhang zwischen Komplementgehalt des Blutes und Ernährungszustand im Hinblick auf die humoralen Abwehrkräfte des Organismus einen Beitrag liefern.

Zusammenfassung.

Die Untersuchungen beim Meerschweinchen ergeben jedenfalls:

Das Komplement im Meerschweinchenserum, sichtbar gemacht und gemessen durch die in der Mengeneinheit vorhandene komplettierende Eigenschaft im hämolytischen System, ist wie die Immunkörper keine unveränderliche Größe.

Der Komplementgehalt ist unabhängig von der Jahreszeit, steht aber mit der Art der Fütterung des Tieres insofern im Zusammenhang, als Krankheit des Tieres besonders bei starker Abmagerung den Komplementgehalt herabsetzt.

1) Kruse und Hintze, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 16.

2) Selter und Nehring, Zeitschr. f. Tuberkulose, Bd. 35.

Nachdruck verboten.

[Aus der wissenschaftlichen Abteilung des Instituts für experim. Krebsforschung in Heidelberg (Direktor: Prof. Dr. H. Sachs).]

Ueber Vermittlung hämolytischer Serumwirkungen und Komplementinaktivierung.

(Versuche mit Inulin und Prodigiosusbazillen.)

Von **Seigo Kondo** aus Kanazawa.

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. Juli 1922.)

Nach der von H. Sachs¹⁾, Hirschfeld und Klinger²⁾ u. a. vertretenen Betrachtungsweise liegt der hämolytischen Komplementwirkung und der Beeinflussung des Komplements durch manche antikomplementär wirkende Momente in gewisser Hinsicht eine gemeinsame Ursache zugrunde. Ebenso wie man nämlich nach dem gegenwärtigen Stand der Forschung annehmen kann, daß die Komplementwirkung eingeleitet wird durch eine Adsorption der labilen Globulinkomponenten des als Komplementträger dienenden Meerschweinchenserums (Mittelstück) an die ambozeptorbeladenen Zellen, so darf man annehmen, daß auch bei antikomplementären Wirkungen zuweilen die Komplementinaktivierung durch Globulinaalterationen ihre Vermittlung erfährt. In solchen Fällen wirkt also das antikomplementäre Agens nicht direkt auf das Gesamtkomplement ein. Es sind vielmehr Veränderungen des Globulins im Sinne einer Dispersitätsvergrößerung, die sekundär zur Aufhebung der Komplementfunktion führen. Als Beweise in dieser Hinsicht werden von Sachs insbesondere Eingriffe betrachtet, die, wie salzarmes Medium, Schlangengifte, gewisse Suspensionen, einerseits antikomplementär wirken, andererseits aber auch die Komplementhämolysen zu vermitteln imstande sind.

1) H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1916, No. 52; Kolloidzeitschr., Bd. 34, 1919, S. 113; H. Sachs und E. Nathan, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25.

2) L. Hirschfeld und R. Klinger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, S. 40; Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25.

Wenn ich auf diese Fragen noch einmal auf Grund neuerer experimenteller Untersuchungen zurückkomme, so geschieht dies aus dem Grunde, weil in den Versuchsergebnissen, die als Beweismaterial für die erörterte Vorstellung dienen können, Divergenzen bestehen, die eine nochmalige Nachprüfung erfordern dürften. Sachs und Ritz¹⁾ haben nämlich in einer früheren Arbeit angegeben, daß die antikomplementäre Wirkung von Prodigiosusbazillen innerhalb gewisser Grenzen um so größer ist, je größere Komplementmengen den Prodigiosusbazillen vorgelegt werden, ein paradoxes Ergebnis, das durch den indirekten Mechanismus der antikomplementären Wirkung (primär Globulinveränderung, sekundär Komplementinaktivierung) seine Erklärung fand. Andererseits haben Sachs und Stilling²⁾ am Beispiel der Inulinwirkung gezeigt, daß Inulinsuspensionen, die antikomplementär wirken, gleichzeitig die Hämolyse durch Meerschweinchenserum ohne weiteren Ambozeptorzusatz vermitteln können, während Inulinlösungen entsprechend ihrem Mangel an physikalischer Reaktionsfähigkeit auch diese beiden biologischen Funktionen vermissen lassen.

Demgegenüber haben Friedberger und Putter³⁾ über Versuche berichtet, die den von Sachs, Ritz und Stilling erhaltenen Ergebnissen widersprechen, indem weder eine Hämolyse vermittelnde Wirkung des Inulins festgestellt werden konnte noch auch Prodigiosusbazillen eine mit der Meerschweinchenserummengenzunehmende antikomplementäre Funktion aufwiesen. Ich habe daher die Versuche in dieser Richtung wieder aufgenommen, und wenn sie auch hier zu den gleichen Ergebnissen führten, wie die früher im Frankfurter Institut für experimentelle Therapie von Sachs und seinen Mitarbeitern ausgeführten Untersuchungen, so möchte ich mir doch kurz

1) H. Ritz und H. Sachs, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26, 1917, S. 483.

2) H. Sachs und E. Stilling, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26, 1917, S. 530.

3) E. Friedberger und E. Putter, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 30, 1920, S. 227.

darüber zu berichten erlauben, weil sie eben gegenüber den negativen Ergebnissen Friedbergers und Putters von neuem die damals erhobenen Befunde bestätigen. Für das Verhalten der Prodigiosusbazillen haben sie zudem vielleicht ein Moment ergeben, das die Divergenz der Ergebnisse möglicherweise bis zu einem gewissen Grade zu erklären imstande ist.

I. Ueber die Vermittlung der Komplementhämolysen durch Inulin.

In bezug auf die vermittelnde Rolle, die das Inulin nach Sachs und Stilling bei der Komplementhämolysen spielt, muß ich mich allerdings auf eine Wiedergabe der neuen Versuchsergebnisse beschränken, da mir eine Erklärung für die Abweichungen gegenüber den von Friedberger und Putter erhobenen Befunden nicht möglich ist.

Ich konnte jedenfalls mit verschiedenen Inulinpräparaten, teils von Merck, teils von Kahlbaum, die von Sachs und Stilling erhaltenen Befunde fast regelmäßig bestätigen. Die Merckschen Präparate wirkten, wie das auch den Angaben der genannten Autoren entspricht, regelmäßiger und stärker, während ein Kahlbaumsches Präparat nur eine geringfügige Hämolysenvermittlung erkennen ließ. Auch ergab sich von neuem, daß die hämolysierende Wirkung beim Digerieren von Inulin und Meerschweinchenserum im Brutschrank vor dem Blutzusatz abgeschwächt oder aufgehoben worden war, während sie durch entsprechendes vorheriges Digerieren bei 0° nicht wesentlich beeinflußt wurde. Auf diesen Befund wiederholt hinzuweisen, scheint mir wichtig zu sein, weil er zeigt, daß die die Hämolysen vermittelnde Inulinsuspension gleichzeitig antikomplementär wirkt, diese antikomplementäre Wirkung aber nur in der Wärme und nicht wesentlich in der Kälte in Erscheinung tritt.

Die Wiederholung eines Grundversuches erlaube ich mir in folgendem anzuführen.

Absteigende Mengen einer 4fach verdünnten 5-proz. Inulinsuspension

a) Mercksches Präparat,

b) Kahlbaumsches Präparat

wurden mit 0,1 ccm Meerschweinchenserum unter Zusatz von 1 ccm Hammelblutaufschwemmung digeriert (Gesamtvolumen 2,1 ccm).

Die eingetretene Hämolysen ist aus Tabelle I ersichtlich.

Tabelle I.

| Mengen der 4fach verdünnten 5-proz. Inulinsuspension ccm | Hämolyse von Hammelblut durch Meer- schweinchenserum unter Zusatz ab- steigender Mengen von Inulin | |
|---|--|------------------------------|
| | a) Mercksches Präparat | b) Kahlbaumsches Präparat |
| 1,0 | Spürchen | 0 |
| 0,5 | Spur | 0 |
| 0,25 | wenig | Spürchen |
| 0,15 | " | " |
| 0,1 | " | " |
| 0,05 | Spur | " |
| 0,025 | Spürchen | " |
| 0,015 | " | " |
| 0,01 | " | 0 |
| 0 | 0 | 0 |

Das Ergebnis bestätigt also die von Sachs und Stilling erhaltenen Befunde. Es zeigt, daß bei mittleren Inulindosen eine relativ optimale Hämolysevermittlung eintritt, die bei dem Merckschen Präparat stärker als bei dem Kahlbaumschen ist.

Allerdings ist es mir ebensowenig wie Sachs und Stilling gelungen, eine vollständige Hämolyse zu erzielen. Ich habe das durch verschiedene sekundäre Einflüsse, so Veränderung der Reaktion des Mediums, zu erreichen versucht, jedoch bisher ohne Erfolg. Nur durch Herabsetzung der Salzkonzentration (0,8 Proz.) schien zuweilen eine gewisse Verstärkung einzutreten, während Erhöhung des Salzgehaltes auf 1 Proz. zu einer Hemmung der Hämolyse führte. Auch bei Verwendung von Meerschweinchenblut, bei dem die Hämolysevermittlung durch Inulin in erheblich geringerem Grade und unregelmäßiger als bei Verwendung von Hammelblut festzustellen war, schien eine Herabsetzung des Salzgehaltes zu einer gewissen Verstärkung zu führen.

Wie dem aber auch sei, so zeigen meine Versuche in Uebereinstimmung mit Sachs und Stilling erneut, daß der Inulinsuspension (im Gegensatz zur Inulinlösung) eine hämolysevermittelnde Wirkung zukommen kann. Wenn Friedberger und Putter dieses Ergebnis nicht bestätigen konnten, so können dafür die besonderen Momente, die schon früher von Sachs und Stil-

ling erörtert wurden, möglicherweise verantwortlich sein. Die negativen Ergebnisse dürften aber kaum die Bedeutung der wiederholten positiven Befunde schmälern können. Die letzteren zeigen eben, daß physikalische Einflüsse für das Manifestwerden der Komplementwirkung von Bedeutung sind, und die Doppelfunktion, die das Inulin ebenso wie andere Agentien in bezug auf antikomplementäre Wirkung und Hämolysevermittlung ausübt, weist auf einheitliche Ursachen hin, die man in diesem Falle in der geeigneten physikalischen Struktur der Inulinsuspension erblicken darf.

II. Ueber die antikomplementäre und hämolytische Wirkung von Prodigiosusbazillen.

Wenn man beim Inulin wenigstens bei Benutzung eines und desselben Präparates auf eine gleiche physikalische Beschaffenheit rechnen kann, liegen die Verhältnisse bei Bazillenaufschwemmungen in dieser Hinsicht anders. Wie schon Ritz und Sachs hervorgehoben haben, können in bezug auf die physiko-chemische Eignung verschiedene Stämme derselben Art mehr oder weniger schwanken. Beschaffenheit der Nährböden, Alter der Kulturen und die Temperatur, bei der das Wachstum erfolgt, werden hier von mehr oder weniger großer Bedeutung sein können. So erscheint es nicht wunderbar, daß die Ergebnisse Abweichungen aufweisen. Bei dem diametralen Gegensatz, in dem die von Friedberger und Putter erhobenen Befunde zu den Ergebnissen von Ritz und Sachs stehen, erschien es aber doch angebracht, auch die Versuche mit Prodigiosusbazillen nochmals aufzunehmen, zumal die äußeren Bedingungen ja immerhin andere waren als diejenigen in Frankfurt.

Bei dem von Ritz und Sachs beschriebenen Phänomen handelt es sich um die Tatsache, daß die antikomplementäre Wirkung von Prodigiosusbazillenaufschwemmungen um so stärker ist, d. h. mit um so geringeren Bazillenmengen gelingt, je größere Meerschweinchenserummengen vorhanden sind, ein paradoxes Verhalten, das aber seine Erklärung findet,

wenn man die antikomplementäre Funktion der Prodigiosusbazillen, ebenso wie diejenige des Cobragiftes und anderer Faktoren im Sinne eines indirekten Einflusses auf das Meerschweinchenserum auffaßt. Es würde sich danach um eine primäre Globulinveränderung durch die Prodigiosusbazillen handeln, die innerhalb gewisser Grenzen mit der Meerschweinchenserummengde wächst und dann indirekt nach dem von Friedemann erörterten Vorgang zur antikomplementären Globulinwirkung führt. Im Gegensatz dazu haben nun Friedberger und Putter gefunden, daß in der antikomplementären Wirkung der Prodigiosusbazillen eine vollkommene Proportionalität zu der verwendeten Meerschweinchenserummengde besteht, d. h. in ihren Versuchen war die antikomplementäre Wirkung um so größer, je geringere Mengen von Meerschweinchenserum zum Versuch verwendet wurden.

Als die Versuche wieder aufgenommen wurden, konnten die Angaben von Ritz und Sachs ohne weiteres bestätigt werden, wie es das folgende Versuchsbeispiel zeigt ¹⁾.

Absteigende Mengen der Prodigiosusbazillenaufschwemmung (Volumen 1,0 ccm) wurden

- a) mit 0,2 ccm Meerschweinchenserum,
- b) mit 0,1 „ „
- c) mit 0,1 ccm 2fach verdünntem Meerschweinchenserum,
- d) mit 0,1 „ 4 „ „
- e) mit 0,1 „ 8 „ „

eine Stunde im Brutschrank digeriert; sodann erfolgte Zusatz von je 0,5 ccm Hammelblutaufschwemmung und 0,5 ccm Ambozeptorverdünnung (siehe Tabelle II).

Tabelle II.

| Mengen der Bazillen- aufschwemmung ccm | Hämolyse von Hammelblut durch Ambozeptor und digerierte Gemische von Prodigiosusbazillen und Meer- schweinchenserum in der Menge von ... ccm | | | | |
|---|--|--------|---------|----------|-----------|
| | a) 0,2 | b) 0,1 | c) 0,05 | d) 0,025 | e) 0,0125 |
| 1,0 | 0 | 0 | Sp | Sp | w |
| 0,5 | 0 | Spch | w | m | m |
| 0,25 | 0 | „ | „ | „ | st |
| 0,15 | 0 | Sp | „ | st | „ |
| 0,1 | Spch | w | m | „ | fk |
| 0,05 | st | m | st | fk | „ |
| 0,025 | fk | st | fk | k | k |
| 0 | k | k | k | „ | „ |

1) Methodisch sei bemerkt, daß Schrägagarkulturen in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt wurden. Wo nichts anderes be-

Wie die Tabelle zeigt, ergibt sich im allgemeinen eine zunehmende antikomplementäre Wirkung der *Prodigiosus*bazillenaufschwemmung mit der Menge des vorgelegten Meerschweinchenserums. Der Grundversuch von Ritz und Sachs erscheint also in diesem Beispiel vollkommen bestätigt¹⁾.

Meine Versuche haben in sehr vielen Wiederholungen so häufig Uebereinstimmung aufgewiesen, daß an der Gesetzmäßigkeit des Vorganges nicht gezweifelt werden kann. Wenn man bedenkt, daß augenscheinlich die geeignete physikalische Struktur der Bazillenaufschwemmung für das paradoxe Verhalten maßgebend ist, so können gelegentliche Ausnahmen die Regel nur bestätigen. Denn es ist, wie ich schon erwähnt habe, nicht zu erwarten, daß die Bazillenaufschwemmung ohne weiteres immer die gleiche physiko-chemische Beschaffenheit besitzt. So kann man z. B. durch das Erhitzen der Bazillenaufschwemmung auf 55° Bedingungen erhalten, bei denen das Ergebnis mehr oder weniger differiert. Ich lasse zunächst in folgendem ein Versuchsbeispiel folgen, in dem das Verhältnis zwischen antikomplementärer Wirkung und Meerschweinchenserummengruppe nach dem Erhitzen entgegengesetzt erscheint.

Absteigende Mengen von *Prodigiosus*bazillenaufschwemmung wurden

I. lebend,

II. nach $\frac{1}{2}$ stündigem Erhitzen auf 55°

mit Meerschweinchenserum in Mengen von

a) 0,2 ccm,

b) 0,1 „

c) 0,05 „

eine Stunde im Brutschrank digeriert; sodann erfolgte Zusatz von Hammelblut und Ambozeptor.

Das Ergebnis zeigt Tabelle III.

merkt ist, kamen 24stündige Brutschrankkulturen von *Prodigiosus*bazillen zur Verwendung.

Die eingetretene Hämolyse wurde mit komplett (k), fast komplett (fk), stark (st), mäßig (m), wenig (w), Spur (Sp), Spürchen (Spch) und 0 bewertet.

1) Erwähnt sei auch, daß ich die Angaben von Ritz und Sachs, nach denen die antikomplementäre Wirkung der *Prodigiosus*bazillen nur bei 37°, nicht bei 0° zum Ausdruck gelangt, im Gegensatz zu den Ergebnissen von Friedberger und Putter stets bestätigen konnte.

Tabelle III.

| Mengen der Bazillen- aufschwem- mung | Hämolyse von Hammelblut durch Ambozeptor und digerierte Gemische von Meerschweinchenserum mit Prodigiosusbazillen | | | | | |
|---|--|--------|--------|---------------------|--------|--------|
| | I. lebend | | | II. auf 55° erhitzt | | |
| | unter Verwendung von Meerschweinchenserum in den Mengen von . . . ccm | | | | | |
| | ccm | a) 0,2 | b) 0,1 | c) 0,05 | a) 0,2 | b) 0,1 |
| 1,0 | 0 | 0 | Spch | w | Sp | Spch |
| 0,5 | 0 | Spch | m | m | m | m |
| 0,25 | Sp | m | st | fk | st | „ |
| 0,15 | m | „ | fk | k | k | st |
| 0,1 | „ | st | k | „ | „ | fk |
| 0,05 | k | fk | „ | „ | „ | k |
| 0,025 | „ | k | „ | „ | „ | „ |

Wie die Tabelle zeigt, fällt der Versuch mit lebenden Prodigiosusbazillen typisch in dem von Ritz und Sachs erörterten Sinne aus; aber nach dem Erwärmen der Prodigiosusbazillen auf 55° ist, wie Teil II der Tabelle zeigt, das Verhältnis umgekehrt, indem hier im wesentlichen die antikomplementäre Wirkung mit der Steigerung der Meerschweinchenserummenge abnimmt. Offenbar haben durch den thermischen Eingriff die Bazillenaufschwemmungen eine derartige Veränderung ihrer Struktur erfahren, daß nunmehr die indirekte Art der antikomplementären Wirkung nicht mehr in dem Maße zum Ausdruck kommt. In anderen Fällen änderte aber auch das Erwärmen der Bazillen auf 55° nichts an dem grundsätzlichen Verhalten, wie es das in Tabelle IV wiedergegebene Versuchsbeispiel zeigt, dessen Anordnung demjenigen in Tabelle III entspricht.

Tabelle IV.

| Mengen der Bazillen- aufschwem- mung | Hämolyse von Hammelblut durch Ambozeptor und digerierte Gemische von Meerschweinchenserum mit Prodigiosusbazillen | | | | | |
|---|--|--------|---------|---------------------|--------|---------|
| | I. lebend | | | II. auf 55° erhitzt | | |
| | unter Verwendung von Meerschweinchenserum in den Mengen von . . . ccm | | | | | |
| | ccm | a) 0,1 | b) 0,05 | c) 0,025 | a) 0,1 | b) 0,05 |
| 1,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | Sp |
| 0,5 | 0 | 0 | w | 0 | Sp | w |
| 0,25 | w | m | st | Sp | w | st |
| 0,15 | m | st | fk | st | fk | k |
| 0,1 | st | fk | k | k | k | „ |
| 0,05 | k | k | „ | „ | „ | „ |

6*

Nicht immer werden also durch das Erhitzen auf 55° die Bedingungen in dem Sinne geändert, daß die paradoxe Art der antikomplementären Wirkung erlischt. Ähnliche, nicht regelmäßige Unterschiede habe ich auch beobachtet, wenn ich die Kulturen einerseits bei Zimmertemperatur unter Farbstoffbildung (rote Kulturen), andererseits im Brutschrank (weiße Kulturen) wachsen ließ. Die Zimmertemperaturkulturen verhielten sich auch in dieser Hinsicht unregelmäßig und ließen nicht immer das von Ritz und Sachs als charakteristisch bezeichnete Verhalten erkennen.

Bei dieser Variabilität wäre an die Möglichkeit zu denken, daß die abweichenden Ergebnisse von Ritz und Sachs einerseits, von Friedberger und Putter andererseits vielleicht durch Verschiedenheiten, möglicherweise auch durch eine verschiedene Wachstumsintensität der Bazillen hervorgerufen sind. Ich habe daher Versuche in der Art angestellt, daß ich verschieden alte Kulturen, die durch Ueberimpfung von ein und derselben Ausgangskultur gewonnen waren, auf ihre antikomplementäre Wirkung prüfte, und die von mir erhobenen Befunde scheinen in der Tat dafür zu sprechen, daß dem Alter der Kulturen ein gewisser Einfluß auf das Ergebnis zugesprochen werden darf, wie es folgender Versuchsanschnitt zeigt.

Absteigende Mengen von Prodigiosusbazillenaufschwemmung aus

I. 7stündiger,

II. 10 „

III. 15 „

IV. 24 „

Brutschrank-Prodigosuskultur wurden mit

a) 0,1 ccm,

b) 0,05 „

Meerschweinchenserum 1 Stunde im Brutschrank digeriert; sodann erfolgte Blut- und Ambozeptorzusatz.

Das Ergebnis zeigt Tabelle V.

Wie die Tabelle zeigt, entspricht das Ergebnis im allgemeinen in den Teilen I und II den von Friedberger und Putter erhobenen Befunden, während es in den Teilen III und IV der von Ritz und Sachs beschriebenen Gesetzmäßigkeit folgt.

Tabelle V.

| Mengen der Bazillen- auf- schwem- mung ccm | Hämolyse von Hammelblut durch Ambozeptor und digerierte Gemische von Meerschweinchenserum und Prodigiosusbazillen | | | | | | | |
|--|--|---------|----------------------------|---------|-----------------------------|---------|----------------------------|---------|
| | I. 7 ^b Kultur | | II. 10 ^b Kultur | | III. 15 ^b Kultur | | IV. 24 ^b Kultur | |
| | unter Verwendung von Meerschweinchenserum in der Menge von . . . ccm | | | | | | | |
| | a) 0,1 | b) 0,05 | a) 0,1 | b) 0,05 | a) 0,1 | b) 0,05 | a) 0,1 | b) 0,05 |
| 1,0 | w | fk | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,5 | „ | m | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,25 | „ | Sp | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,15 | m | w | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,1 | k | m | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,05 | „ | st | Spch | 0 | 0 | Spch | 0 | w |
| 0,025 | „ | k | k | w | Spch | w | w | m |
| 0,015 | „ | „ | „ | m | m | m | „ | st |
| 0,01 | „ | „ | „ | st | st | st | „ | fk |
| 0 | „ | „ | „ | k | k | k | k | k |

Der Unterschied ist nur in dem Alter der Kulturen gelegen, und man darf wohl annehmen, daß innerhalb gewisser Grenzen mit dem Alter der Kultur die Beschaffenheit der Bazillenaufschwemmung fortschreitende Veränderungen annimmt, die zu der paradoxen Art der antikomplementären Wirkung führen. Auch in dieser Hinsicht waren die Versuchsergebnisse, wie man von vornherein erwarten kann, nicht regelmäßig. Eine Reihe von vergleichenden Untersuchungen ließen aber doch auf ein im allgemeinen gesetzmäßiges Verhalten in dem Sinne schließen, daß mit dem Alter der Kultur das Phänomen der Steigerung der antikomplementären Wirkung mit der Meerschweinchenserummeng zuzunehmen kann.

Beachtenswert erscheint nun in Teil I der Tabelle die Tatsache, daß bei größeren Mengen von Prodigiosusbazillen eine stärkere Hämolyse aufgetreten ist, als bei kleineren. Wie besondere Kontrollversuche zeigten, ist hierfür eine hämolytische Wirkung der Prodigiosusbazillen verantwortlich zu machen, die, wie das gleichfalls die Tabelle zeigt, mit Steigerung der Meerschweinchenserummeng gehemmt wird. Diese hämolytische Wirkung der Prodigiosusbazillen könnte natürlich die Ergebnisse bis zu einem gewissen Grade verwischen, und ich glaubte daher bei der Analyse der komplementinaktivierenden Wirkung der

Prodigiosusbazillen ihrer hämolytischen Wirkung besondere Beachtung schenken zu sollen. Vielleicht ist die Eigenart der hämolytischen Prodigiosuswirkung auch an und für sich von einem gewissen Interesse. Schon Sachs und Stilling haben kurz angeführt, daß die von ihnen benutzten Prodigiosusbazillenaufschwemmungen an und für sich mehr oder weniger stark hämolytisch wirkten, wobei die bei Zimmertemperatur gewachsenen roten Kulturen die bei Brutschranktemperatur gewachsenen weißen Kulturen übertrafen, und sie wiesen bereits darauf hin, daß bei Zusatz von Meerschweinchenserum eine mehr oder weniger erhebliche Verstärkung der Hämolyse zu erzielen ist. Ich habe in Fortsetzung älterer, im Frankfurter Institut für experimentelle Therapie von Stilling ausgeführter und nicht veröffentlichter Untersuchungen nun in dem hier interessierenden Zusammenhang auf die durch die Prodigiosusbazillen bewirkte Hämolyse geachtet und glaube über meine bisherigen Beobachtungen, wenn sie auch kaum auf Vollständigkeit Anspruch erheben dürfen, kurz berichten zu sollen.

Wie sehr die bei Zimmertemperatur und bei 37° gewachsenen Kulturen in ihrer hämolytischen Wirkung differieren, zeigt das folgende Versuchsbeispiel.

24stündige Schrägagarkulturen von Prodigiosusbazillen

a) bei Zimmertemperatur rot gewachsen,

b) bei Brutschranktemperatur weiß gewachsen

werden in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung in absteigenden Mengen digeriert (Gesamt volumen 2 ccm).

Das Ergebnis zeigt Tabelle VI.

Tabelle VI.

| Mengen der Prodigiosusbazillen- aufschwemmung ccm | Hämolyse von Hammelblut durch Pro- digiosusbazillen gewachsen | |
|--|--|------------|
| | a) bei Zimmertemperatur | b) bei 37° |
| 1,0 | k | 0 |
| 0,5 | " | 0 |
| 0,25 | " | 0 |
| 0,15 | " | 0 |
| 0,1 | st | 0 |
| 0,05 | m | 0 |
| 0,025 | w | 0 |
| 0,015 | Sp | 0 |
| 0 | 0 | 0 |

Wie die Tabelle zeigt, haben nach 24stündigem Wachstum nur die Zimmerkulturen, nicht die Brutschrankkulturen hämolytisch gewirkt¹⁾. Die Frage, ob etwa die Farbstoffbildung mit der hämolytischen Wirkung in irgendeinem Zusammenhang steht, habe ich nicht näher geprüft. Daß die Hämolyse keinesfalls allein von der Farbstoffbildung abhängig ist, zeigen die weiteren Versuche, in denen sich ergab, daß auch im Brutschrank gewachsene Kulturen hämolytisch wirken, wenn nur die Zeit der Bebrütung eine beschränkte ist, wie sich das übrigens auch schon zum Teil aus dem in Tabelle V wiedergegebenen Versuchsbeispiel ergibt. Zum Beleg hierfür möchte ich den folgenden Versuch anführen.

Schrägagarkulturen von Prodigiosusbazillen wurden

- a) nach 7stündigem Wachstum bei 37 °,
- b) „ 14 „ „ 37 °,
- c) „ 24 „ „ 37 °

mit je 5 cem physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Die Abschwemmungen wurden in absteigenden Mengen unter Zusatz von je 1 cem Hammelblutaufschwemmung (Gesamt volumen 2 cem) auf hämolytische Wirkung geprüft.

Das Ergebnis zeigt Tabelle VII.

Tabelle VII.

| Mengen der Prodigiosusbazillenaufschwemmung cem | Hämolyse von Hammelblut durch Prodigiosusbazillen, im Brutschrank gewachsen | | |
|---|---|---------------|---------------|
| | a) 7 Stunden | b) 14 Stunden | c) 24 Stunden |
| 1,0 | k | Sp | 0 |
| 0,5 | „ | Spch | 0 |
| 0,25 | „ | „ | 0 |
| 0,15 | „ | 0 | 0 |
| 0,1 | „ | 0 | 0 |
| 0,05 | m | 0 | 0 |
| 0,25 | Spch | 0 | 0 |
| 0 | 0 | 0 | 0 |

Die Hämolyse ist also durch die nur 7stündigen Kulturen am stärksten bewirkt worden. Schon nach 14stündigem Wachstum im Brut-

1) Es sei darauf hingewiesen, daß Kaninchenblut weit stärker der hämolytischen Wirkung unterliegt als Hammelblut.

schränkt ist die hämolytische Wirkung fast ganz, nach 24stündigem Wachstum ist sie völlig geschwunden.

Die hier bei den Prodigiosusbazillen sich zeigende Labilität der Hämolysinbildung bzw. der entstandenen hämolytischen Stoffe ist an und für sich nicht neuartig. Sie entspricht älteren Untersuchungen von Braun¹⁾, der beim Streptokokkenhämolysin sehr ähnliche Beobachtungen gemacht hat, und neuerdings hat Bach²⁾ bei der Prüfung des Hämatoxinbildungsvermögens von Proteusbazillen gleichfalls gefunden, daß die maximale Wirkung bereits nach einem Wachstum von nur wenigen Stunden vorhanden ist und nach längerem Wachstum rasch abgeschwächt wird.

Ueber die Natur der von den Prodigiosusbazillen gebildeten Hämolsine, über die schon frühere Angaben von Bertarelli³⁾ vorliegen, habe ich eingehende Prüfungen nicht angestellt, da es mir im wesentlichen darauf ankam, über eine etwa durch die Hämolysinbildung bedingte Interferenz bei der antikomplementären Wirkung Anhaltspunkte zu gewinnen. Die hämolytische Wirkung der Bazillenaufschwemmung wurde meist durch halbstündiges Erhitzen auf 55°, stets durch Erhitzen auf 100° aufgehoben. Gelegentlich war allerdings nach dem Erhitzen auf 55° bei großen Bazillenmengen eine Zunahme oder sogar bei unwirksamen Suspensionen das Auftreten einer hämolytischen Wirkung festzustellen, wie es folgendes Versuchsbeispiel zeigt.

Absteigende Mengen 14stündiger Prodigiosusbazillenaufschwemmung werden

- a) im nativen Zustande,
- b) nach 1/2stündigem Erhitzen auf 55°,
- c) „ „ „ „ 100°

mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung (Gesamtvolumen 2 ccm) digeriert.

Die eingetretene Hämolyse ist aus Tabelle VIII ersichtlich.

1) H. Braun, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 62, 1912, S. 383; vgl. hierzu auch Besredka, Ann. Inst. Pasteur, T. 15, 1901.

2) F. W. Bach, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 85, 1921, S. 305.

3) E. Bertarelli, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 34, 1903, S. 193 und 312.

Tabelle VIII.

| Mengen der Prodigosusbazillen- aufschwemmung ccm | Hämolyse von Hammelblut durch Prodigosus- bazillenaufschwemmung | | |
|---|--|---------------------|----------------------|
| | a) nativ | b) auf 55 ° erhitzt | c) auf 100 ° erhitzt |
| 1,0 | 0 | k | 0 |
| 0,5 | 0 | w | 0 |
| 0,25 | 0 | Spch | 0 |
| 0,15 | 0 | 0 | 0 |

Wie die Tabelle zeigt, wirkt in diesem Falle nur die auf 55 ° erhitzte Aufschwemmung hämolyzierend. Die Ursache dieser Erscheinung möchte ich dahingestellt sein lassen. Vielleicht kann man an die Möglichkeit denken, daß es sich um ein im Sinne einer hämolytischen Wirkung durch Erhitzen bedingtes Freiwerden von Lipoidstoffen handelt. Es würde dazu nicht im Gegensatz stehen, daß die hämolytische Wirkung der auf 55 ° erhitzten Kulturen durch Meerschweinchenserumzusatz gehemmt wird, wie das übrigens auch für größere Mengen hämolytisch wirkender lebender junger Kulturen gilt. Andererseits bewirkte ein Zusatz von Meerschweinchenserum zu kleineren Mengen der Bazillenaufschwemmungen häufig eine Verstärkung oder sogar erst ein Hervortreten der hämolytischen Wirkung, wie es folgendes Versuchsbeispiel zeigt.

Absteigende Mengen Prodigosusbazillenaufschwemmung werden

a) unter Zusatz von je 0,1 ccm Meerschweinchenserum,

b) ohne weiteren Zusatz

mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung digeriert.

Das Ergebnis zeigt Tabelle IX.

Tabelle IX.

| Mengen der Prodigosusbazillen- aufschwemmung ccm | Hämolyse von Hammelblut durch Prodigosus- bazillenaufschwemmung | |
|---|--|-----------|
| | a) unter Zusatz von Meer- schweinchenserum | b) allein |
| 1,0 | 0 | st |
| 0,5 | 0 | m |
| 0,25 | 0 | w |
| 0,15 | 0 | Spch |
| 0,1 | Spch | 0 |
| 0,05 | w | 0 |
| 0,025 | 0 | 0 |
| 0,015 | Spch | 0 |
| 0,01 | 0 | 0 |
| 0 | 0 | 0 |

Die Prodigiosusbazillenaufschwemmung wirkt also in dem vorliegenden Versuchsbeispiel nur in größeren Mengen hämolytisch; die hämolytische Wirkung wird durch Meerschweinchen-serumzusatz aufgehoben. Andererseits bedingt aber der Zusatz des Meerschweinchen-serums eine hämolytische Wirkung kleinerer Mengen der Bazillenaufschwemmung. Es handelt sich hier um ein Zusammenwirken der Prodigiosusbazillen mit Meerschweinchen-serum, auf das bereits Sachs und Stilling hingewiesen haben, und das, wie die genannten Autoren schon erwähnten, auch bei Verwendung inaktivierten Meerschweinchen-serums in Erscheinung tritt ¹⁾.

Von Interesse erschien nun hauptsächlich die Frage, ob etwa durch die hämolytische Wirkung der Prodigiosusbazillen und ihre Beeinflussbarkeit durch Meerschweinchen-serum die Ergebnisse der antikomplementären Prodigiosuswirkung in störender Weise beeinträchtigt werden können. Von vornherein könnte man immerhin annehmen, daß das bis zu einem gewissen Grade der Fall ist. Es können nämlich zuweilen die Bedingungen so liegen, daß die hämolytische Wirkung von Prodigiosusbazillen mit der Zunahme der Meerschweinchen-serummenge in steigendem Maße abgeschwächt wird, wie es folgendes Versuchsbeispiel zeigt.

Absteigende Mengen von Prodigiosusbazillenaufschwemmung werden unter Zusatz von

- a) 0,1 ccm Meerschweinchen-serum,
- b) 0,05 „ „
- c) 0,025 „ „
- d) ohne weiteren Zusatz

mit 1 ccm Hammelblut digeriert.

Das Ergebnis zeigt Tabelle X.

Die Tabelle bestätigt zunächst das in Tabelle IX wiedergegebene Versuchsbeispiel, indem in den größeren Mengen der Bazillenaufschwemmung die Hämolyse durch Meerschweinchen-serumzusatz gehemmt

1) Ob hierbei etwa eine ähnliche Wirkung vorliegt, wie bei der von Walbum (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909, S. 70) beschriebenen Verstärkung der lytischen Wirkung von Bakterienhämotoxinen durch Peptonzusatz, möchte ich dahingestellt sein lassen.

Tabelle X.

| Mengen der Prodigosusbazillen- aufschwemmung ccm | Hämolyse von Hammelblut durch Prodigosusbazillen- aufschwemmung unter Zusatz von | | | |
|---|---|--|---|------------------------------|
| | a) 0,1 ccm Meerschwein- chenserum | b) 0,05 ccm Meerschwein- chenserum | c) 0,025 ccm Meerschwein- chenserum | d) ohne wei- teren Zusatz |
| 1,0 | 0 | 0 | 0 | st |
| 0,5 | 0 | Sp | Sp | m |
| 0,25 | 0 | " | " | w |
| 0,15 | 0 | Spch | " | Spch |
| 0,1 | Spch | " | Spch | 0 |
| 0,05 | w | w | " | 0 |
| 0,025 | " | " | " | 0 |
| 0,015 | Spch | " | " | 0 |
| 0,01 | " | Sp | 0 | 0 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

wird, während der Zusatz von Meerschweinchenserum bei kleineren Bazillenmengen erst zur Hämolyse führt. Aus dem oberen Teil der Tabelle ist aber zugleich ersichtlich, daß die Hämolyse durch größere Bazillenmengen mit Zusatz des Meerschweinchensersums fortschreitend abnimmt, und man könnte daher geneigt sein anzunehmen, daß die Zunahme der antikomplementären Wirkung mit der Meerschweinchenserummengende vorgetäuscht wird, indem bei kleineren Meerschweinchenserummengen die Hämolyse durch Prodigosusbazillen bedingt ist, die bei größeren Meerschweinchenserumdosen ausbleibt. Dagegen spricht aber bereits der Umstand, daß die Hämolyse durch Prodigosusbazillen ziemlich langsam eintritt. Die Komplementhämolyse ist schon zu einer Zeit vollständig, zu der von der Prodigosushämolyse noch nichts zu merken ist, und trotzdem treten die Unterschiede in der antikomplementären Wirkung in Abhängigkeit von der Meerschweinchenserumdosis deutlich in Erscheinung.

Auch ist der Verlauf der hämolytischen Prodigosuswirkung durchaus nicht immer so, wie in dem angeführten Versuch. Daß 24stündige Brutschrankkulturen der Prodigosusbazillen an und für sich hämolytisch wirken, gehört zu den Seltenheiten. In der überwiegenden Mehrzahl der Versuche war eine Hämolyse nicht zu bemerken, und trotzdem fiel der antikomplementäre Versuch in dem von Sachs und Ritz erkannten charakteristischen Sinne typisch aus.

Bei hämolytisch unwirksamen *Prodigiosus*bazillen äußert sich zudem die verstärkende Wirkung des Meerschweinchenserums häufig darin, daß sich die hämolytische Zone mit steigender Meerschweinchenserummengende nach oben, d. h. nach der Richtung der größeren Bazillenmengen verschiebt, und gleichwohl nimmt dabei die antikomplementäre Wirkung mit der Meerschweinchenserummengende zu. Auch hierfür möchte ich im folgenden ein Versuchsbeispiel anführen.

Absteigende Mengen *Prodigiosus*bazillenaufschwemmung wurden mit

a) 0,2 ccm Meerschweinchenserum,

b) 0,1 „ „

c) 0,05 „ „

1 Stunde im Brutschrank digeriert.

Die Reihen wurden doppelt (I, II) ausgeführt:

zu den Reihen I wurde ambozeptorbeladenes Hammelblut gefügt,

zu den Reihen II gewöhnliches Hammelblut (ohne Ambozeptor).

Das Ergebnis zeigt Tabelle XI.

Tabelle XI.

| Mengen der Prodigiosus- bazillenauf- schwemmung | Hämolyse von Hammelblut durch die Gemische von Meer- schweinchenserum und Prodigiosusbazillen | | | | | |
|--|--|--------|--------|---------------------|--------|--------|
| | I. bei Ambozeptorzusatz | | | II. ohne Ambozeptor | | |
| | und Verwendung von Meerschweinchenserum in der Menge von ... ccm | | | | | |
| | ccm | a) 0,2 | b) 0,1 | c) 0,05 | a) 0,2 | b) 0,1 |
| 1,0 | 0 | 0 | Spch | 0 | 0 | 0 |
| 0,5 | 0 | Spch | m | 0 | 0 | 0 |
| 0,25 | Spch | m | st | 0 | 0 | 0 |
| 0,15 | m | „ | fk | w | Sp | 0 |
| 0,1 | „ | st | k | „ | w | 0 |
| 0,05 | k | fk | „ | Spch | „ | w |
| 0,025 | „ | k | „ | „ | Sp | Sp |
| 0,015 | „ | „ | „ | 0 | 0 | Spch |
| 0,01 | „ | „ | „ | 0 | 0 | 0 |
| 0 | „ | „ | „ | 0 | 0 | 0 |

Wie die Kontrollreihen II, die die hämolytische Wirkung der *Prodigiosus*bazillen betreffen, zeigen, nimmt hier im oberen Teil der Tabelle die hämolytische Wirkung mit dem Meerschweinchenserumzusatz zu, und trotzdem ist, wie sich aus Teil I der Tabelle ergibt, die antikomplementäre Wirkung um so stärker, je größere Meerschweinchenserumdosen den Bazillen vorgelegt

werden. Man kann daher wohl kaum an die Möglichkeit der Deutung denken, daß durch die hämolytische Wirkung der Prodigiosusbazillen ein irriges Ergebnis vorgetäuscht wird, und in diesem Sinne sprechen auch die zahlreichen Versuche, in denen eine hämolytische Wirkung von Prodigiosusbazillen nach Zusatz von Meerschweinchenserum überhaupt nicht in Erscheinung trat.

Nicht unerwähnt möchte ich lassen, daß bei anderen Bazillenarten, die die bei den Prodigiosusbazillen bestehende Abhängigkeit der antikomplementären Wirkung von der Meerschweinchenserummengruppe nicht in Erscheinung treten lassen, trotzdem in bezug auf die hämolytische Wirkung der Bazillenaufschwemmungen ähnliche Bedingungen vorliegen können. So haben sich mir bei der Prüfung von Proteus X 19-Bazillen auf hämolytische Wirkung in bezug auf Auftreten und Erlöschen der hämolytischen Funktion ganz ähnliche Verhältnisse ergeben, wie sie bereits von Bach beschrieben worden sind. Ich konnte außerdem bei X 19-Bazillen beobachten, daß auch hier ebenso wie bei Prodigiosusbazillen die hämolytische Wirkung durch Meerschweinchenserum einerseits abgeschwächt (größere Bazillennengen), andererseits verstärkt (kleinere Bazillennengen) wird, und dabei erwies sich die antikomplementäre Funktion hier umgekehrt proportional der Meerschweinchenserummengruppe, wie es folgendes Versuchsbeispiel zeigt.

Absteigende Mengen X 19-Bazillenaufschwemmung wurden mit

- a) 0,1 ccm Meerschweinchenserum,
- b) 0,05 „ „
- c) 0,025 „ „

1 Stunde im Brutschrank digeriert.

Die Reihen wurden doppelt (I, II) angesetzt.

Sodann erfolgte zu den Reihen I Zusatz von ambozeptorbeladenem Hammelbut,

zu den Reihen II Zusatz von gewöhnlichem Hammelblut (ohne Ambozeptor).

Das Ergebnis zeigt Tabelle XII.

Die hämolytische Wirkung nimmt also bei den größeren Bazillennengen (Teil II der Tabelle) mit zunehmendem Meerschweinchenserumzusatz ab, und das gleiche trifft hier auch für die antikomplementäre Funktion zu. Die Bedingungen liegen also in diesem Sinne umgekehrt wie bei

Tabelle XII.

| Mengen der X 19- Bazillenauf- schwemmung | Hämolyse von Hammelblut durch Gemische von Meer- schweinchenserum und X 19-Bazillen | | | | | |
|---|--|--------|---------|---------------------|--------|---------|
| | I. mit Ambozeptorzusatz | | | II. ohne Ambozeptor | | |
| | und Verwendung von Meerschweinchenserum in der Menge von . . . ccm | | | | | |
| | ccm | a) 0,1 | b) 0,05 | c) 0,025 | a) 0,1 | b) 0,05 |
| 1,0 | k | 0 | 0 | 0 | Sp | Sp |
| 0,5 | „ | m | 0 | 0 | w | w |
| 0,25 | „ | st | w | w | m | m |
| 0,15 | „ | k | st | m | „ | m |
| 0,1 | „ | „ | k | „ | „ | st |
| 0 | „ | „ | „ | 0 | 0 | 0 |

den Prodigiosusbazillen, und man darf wohl auch hieraus einen weiteren Hinweis darauf erblicken, daß bei den Prodigiosusbazillen besondere Momente eine Rolle spielen.

Wie sich daher die gegensätzlichen Ergebnisse von Friedberger und Putter erklären, muß ich dahingestellt sein lassen. Es ist möglich, daß die Differenzen durch die verschiedene Beschaffenheit der Bazillenaufschwemmung eine Deutung finden, und das an früherer Stelle dieser Arbeit beschriebene abweichende Verhalten junger Kulturen (siehe Tabelle V) könnte wohl in diesem Sinne sprechen. Wie weit etwa die hämolytische Wirkung der Prodigiosusbazillen Befunde im Sinne von Friedberger und Putter vorzutäuschen imstande sein würde, vermag ich nicht zu beurteilen.

Jedenfalls aber bestätigen die hier mitgeteilten Versuche die Richtigkeit der Beobachtungen von Sachs und Ritz. Man kann sie wohl nur in dem Sinne deuten, daß es sich um eine indirekte Art der antikomplementären Wirkung handelt, daß also die Prodigiosusbazillen als antikomplementäres Agens primär alterierend auf die Globuline wirken, und daß dann sekundär die antikomplementäre Funktion der derart veränderten Globuline zum Ausdruck gelangt. Ein Mangel an Reproduktionsfähigkeit würde die Beweiskraft der Befunde nicht zu schmälern imstande sein. Die positiven Versuche genügen, um zu zeigen, daß ein der-

artiger Wirkungsmechanismus vorkommen kann. Bei der Häufigkeit, mit der ich die Ergebnisse erhalten habe, möchte ich aber glauben, daß dieser Form der antikomplementären Funktion, die ja zudem mit den Bedingungen der Komplement-inaktivierung im salzarmen Medium, durch Kobragift und beim Schütteln weitgehende Analogien aufweist, auch für die Prodigiosusbazillen ein gesetzmäßiger Charakter zugesprochen werden darf.

Zur Erklärung der Erscheinung würde unter Umständen auch die Vorstellung genügen, daß die durch das antikomplementäre Agens alterierten Globuline ihre Reaktionsfähigkeit mit der ambozeptorbeladenen Zelle eingebüßt haben, und daß diese Alteration von der Serumkonzentration abhängig ist. Allerdings spricht der Umstand, daß das durch die hier in Frage kommenden Eingriffe inaktivierte Meerschweinchenserum in der Regel durch thermo-inaktiviertes Serum reaktiviert werden kann, mehr zugunsten einer indirekten Wirkungsart.

Zusammenfassung.

1) In Bestätigung früherer Versuche von Sachs und Stilling konnte festgestellt werden, daß durch Inulinsuspensionen, aber nicht durch Inulinlösungen, die hämolytische Wirkung von Meerschweinchenserum ohne weiteren Ambozeptorzusatz vermittelt werden kann.

2) In Bestätigung früherer Angaben von Ritz und Sachs erwies sich die antikomplementäre Wirkung von Prodigiosusbazillen in dem Sinne abhängig von der Meerschweinchenserummengende, daß mit deren Steigerung auch die antikomplementäre Wirkung zunahm.

3) Ausnahmen von dieser Regel wurden beobachtet, so zuweilen bei auf 55° erhitzten Bazillenaufschwemmungen. Die Erscheinung war aber im übrigen so regelmäßig, daß an einer Gesetzmäßigkeit nicht gezweifelt werden kann.

4) Es scheint allerdings, daß das Alter der Kulturen von Bedeutung ist. Junge Kulturen wirkten zuweilen bei Verminderung der Meerschweinchenserummengende stärker antikomplementär, wie das den von Friedberger und Putter erhobenen Befunden entspricht, während ältere Kulturen

gleicher Ueberimpfung das von Sachs und Ritz charakterisierte Verhalten aufwiesen.

5) Prodigiosusbazillenaufschwemmungen können hämolytisch wirken, und zwar die bei Zimmertemperatur gewachsenen roten Bazillen stärker als die im Brutschrank gewachsenen weißen Bazillen.

6) Beim Wachstum im Brutschrank ist die optimale hämolytische Wirkung der Bazillenaufschwemmung nach kurzem (etwa 7stündigem) Wachstum vorhanden. 24stündige Brutschrankkulturen wirken in der Regel nicht hämolytisch.

7) Zuweilen tritt bei unwirksamen Bazillenaufschwemmungen nach dem Erhitzen auf 55° eine geringe hämolytische Wirkung auf.

8) Die hämolytische Wirkung der Prodigiosusbazillenaufschwemmungen wird durch Meerschweinchenserum gehemmt. Bei kleineren Bazillenmengen, die an und für sich nicht oder nur geringgradig hämolytisch wirken, tritt indessen durch Meerschweinchenserumzusatz eine Verstärkung der Hämolyse auf.

9) Eine Interferenz der hämolytischen Wirkung der Prodigiosusbazillen und deren Aktivierung durch Meerschweinchenserum scheint bei der Form, in der die antikomplementäre Wirkung zum Ausdruck kommt, nicht zu bestehen.

10) X 19-Bazillen, die in ihrer hämolytischen Wirkung sich ähnlich wie Prodigiosusbazillen verhalten, wirkten im Gegensatz zu Prodigiosusbazillen um so stärker antikomplementär, je geringere Meerschweinchenserummengen ihnen vorgelegt wurden.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Chemotherapeutischen Institut in Florenz
(Direktor: Prof. Dr. Giorgio Castelli).]

Ueber die Toxizität der Arsenobenzole.

Von Dr. med. et chem. **G. Castelli.**

Mit 2 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. Juni 1922.)

Das Problem der Giftwirkung der Arsenobenzole hat der modernen Toxikologie viel zu schaffen gemacht. Die praktische Anwendung dieser Mittel geht auf verhältnismäßig wenige Jahre zurück. Gleichwohl sind die dadurch hervorgerufenen Erörterungen zahlreich und umfassend und haben das Interesse einer erheblichen Zahl von Forschern gefesselt, vom praktischen Arzt bis zum Pharmakologen von Ruf. Aber nach vielem Hin- und Herstreiten ist man doch noch weit davon entfernt, einig zu sein, und das beweist wohl, daß wir noch nicht zu einer Erkenntnis gekommen sind, die sich als Grundlage für eine Erklärung durchsetzen könnte. Es liegt an der Natur des Problems, daß die Anschauungen so stark divergieren. Einerseits ist die Symptomatologie der den Arsenobenzolen zugeschriebenen Störungen sehr vielgestaltig, ich möchte sagen, chaotisch. Denn es werden da unter einem allgemeinen Begriff ganz verschiedene Störungen zusammengefaßt, solche des Verdauungsapparates, des Zirkulationsapparates, des Nervensystems usw. Auf der anderen Seite haben selbst hervorragende Forscher, welche sich mit der Frage beschäftigten, das Problem doch nicht in seiner ganzen Tiefe erfaßt und es nicht völlig nach seinen verschiedenen Seiten hin gewürdigt. Sie betrachteten vorzugsweise und fast ausschließlich das Individuum und wohl nicht hinreichend das zur Anwendung kommende Präparat. Man hat auf wissenschaftlichen Kongressen die widersprechendsten Angaben und mannigfachsten Hypothesen angehört, die, wenn sie auch noch

so durchdacht und geistvoll waren, sich nicht genügend Rechenschaft über den Gegenstand gaben, der den Ausgangspunkt der Erörterung bildete: das Arsenobenzol in den verschiedenen Arten der Darreichung. Wer die Erzeugung und Vervollkommnung der in Frage kommenden Produkte seit dem Tage ihrer Entdeckung mit ständigem Interesse verfolgt hat, wer sich bemüht hat, das Medikament in seiner endgültigen Form herzustellen, indem er mit der größten Genauigkeit den feinsten Details der synthetischen Zusammensetzung der Arsenobenzole seine Aufmerksamkeit zuwendete, wer bestrebt war, sie einzeln nach ihrem biologischen Wert abzuschätzen — der kann am besten die Zahl der aufeinanderfolgenden Modifikationen resp. Verbesserungen beurteilen; diese Verbesserungen traten langsam hervor und dank einer recht erheblichen Anzahl von analytischen Maßnahmen, welche nach und nach verändert, verworfen oder endlich angenommen wurden, je nach dem Ausfall der zahllosen experimentellen und klinischen Versuche.

Es ist nicht ganz leicht, mit chemotherapeutischem Sinn die umfangreiche Literatur durchzugehen, welche sich mit der Synthese der Arsenobenzole beschäftigt; es ist vielmehr eine langwierige und schwierige Arbeit, und sie hat manchen alten Kämpfen entmutigt, manche tapfere und geistvolle Initiative zum Scheitern gebracht. Immerhin kann ein Einblick in diesen Zusammenhang helles Licht auf das in Rede stehende toxikologische Problem werfen. Damit soll hier nicht gesagt sein, daß die durch Arsenobenzol hervorgerufenen Störungen stets oder auch nur in den meisten Fällen auf der mangelhaften oder schadhaft gewordenen chemischen Zusammensetzung des Präparates beruhen. Viele Störungen, welche durch organische Veränderungen bedingt sind, kommen ohne weiteres auf Rechnung des Individuums, z. B. jene an den Ausscheidungsorganen, sowie jene besonders wichtigen, welche entstehen, wenn durch die Wirkung des Arsenobenzols der an besonders gefährlicher Körperstelle befindliche pathogene Erreger gereizt wird (Herxheimer).

Wir wollen hier nur dies sagen: Sucht man einige dieser Arsenobenzolstörungen zu erklären, besonders diejenigen, welche alsbald nach der Injektion sich geltend machen und mit der ganz allgemeinen Bezeichnung der „nitritoiden Krisen“ zusammengefaßt werden, so sollte man doch die chemische Seite der Frage nicht außer acht lassen. Arsenobenzole stellen nun einmal komplizierte Verbindungen dar. Sie sind, wie bekannt, sehr schwer rein darzustellen, und auch die Verbindungen, aus denen sie unmittelbar gewonnen werden, nämlich die verschiedenen Reduktionsprodukte von der Arsinsäure bis zum Arsoderivat, sind sehr schwierig in reinem Zustande zu gewinnen. Es kommt hinzu, daß angesichts der großen Be-

Unsere Kurve 1 zeigt, wie es möglich ist, zum Arsenobenzol zu gelangen, indem man von Produkten ausgeht, die unter sich sehr verschieden sein können und so auf ganz getrennten Wegen zum Ziele kommt; man betrachte z. B. die



Kurve 1. Schematische Uebersicht über die Synthese der Arsenobenzole.

Unsere Kurve 1 zeigt, wie es möglich ist, zum Arsenobenzol zu gelangen, indem man von Produkten ausgeht, die unter sich sehr verschieden sein können und so auf ganz getrennten Wegen zum Ziele kommt; man betrachte z. B. die

Reduktion der 4-Oxy-3-Nitrophenylarsinsäure (ein Produkt, das ich hier der Bequemlichkeit halber mit „605“ bezeichnen werde) zum „606“. Bekanntlich gelangten Ehrlich und Berthelm zum „606“ mittels stufenweiser Reduktion auf dem Wege über Aminosäure, m-Amino, p-Oxyphenylarsinoxid und das Arsoderivat mittels Natriumamalgam, schwefliger Säure in Gegenwart von Jodwasserstoffsäure und wieder Natriumamalgam, schließlich durch totale Reduktion mit Natriumhydrosulfit. Berthelm selbst hat aber beobachtet, daß dieser Prozeß, obgleich sehr schnell, doch keineswegs ideal war; denn er liefert bisweilen sehr veränderliche und oxydable Produkte, die meist geringe Mengen von schwefelhaltigen Arsenverbindungen enthalten. Berthelm versuchte seinerseits diesem Uebelstand zu steuern, indem er während der Reduktion Magnesiumsalze hinzufügte. Es folgten langwierige Untersuchungen, um dieses Verfahren durch ein anderes, geeigneteres zu ersetzen, und man gelangte so nach und nach zu dem im Patent No. 271 894 beschriebenen Verfahren (Reduktion mit unterphosphoriger Säure). Dieses gibt eine sehr gute Ausbeute und liefert Produkte, welche viel reiner sind als die, welche nach obiger Methode erhalten wurden.

Eine solche Abänderung der Technik ist nicht nur von Wichtigkeit für die Reinheit des gewonnenen Produktes, sondern auch, weil die Nebenprodukte völlig andere sind. Es sind nicht, wie früher, schwefelhaltige, sondern phosphorhaltige Verbindungen, und als solche minder giftig. Wie kann nun der Arzt, der diese tiefgreifenden Unterschiede der Technik nicht kennt, die therapeutische Wirksamkeit beurteilen und, was noch wichtiger ist, die toxischen Störungen gegeneinander abwägen, welche durch das Präparat in seinen beiden verschiedenen Herstellungsformen hervorgerufen werden? Ein anderes Beispiel wird vielleicht die hier dargelegte Auffassung noch besser beleuchten, die Auffassung, daß man bei Erörterung der Giftwirkung der Arsenobenzole die chemische Seite der Frage nicht außer acht lassen darf. Unter den im Verlauf der synthetischen Darstellung sich ergebenden Zwischenprodukten ist eins, das sich als „obligate Brücke“ bezeichnen ließe, insofern, als der Weg, unabhängig vom

Ausgangsprodukt, notwendigerweise über diese Brücke führen muß. Ich meine die 4-Oxy-3-Nitrobenzolarsinsäure, eine Säure, welche ich oben mit der Zahl „605“ bezeichnete. Nun ist diese Säure, obgleich kristallisierbar und stabil, praktisch doch sehr schwierig rein darzustellen. Anstatt OH-Gruppen zu erhalten, reißt sie gern Spuren der ursprünglichen Gruppierungen mit. Daraus folgt, daß das Endprodukt in sehr beträchtlicher Weise unter dem Einfluß des Anfangsproduktes leidet. Der Grund dafür ist die Tatsache, daß man zum „605“ durch Verseifung eines p-Amins oder eines p-halogenen Nitroderivats gelangt ist. Einer italienischen Firma, welche sich anschickte, ein dem Neosalvarsan gleiches Produkt zu erzeugen, gelang es, ein Präparat herzustellen, welches chemisch dem Gesuchten entsprach; aber die fehlende biologische Kontrolle (denn diese allein ist es, die bei gewissenhaftester Anwendung die schädlichen Beimengungen des Produktes erweisen kann) war die Ursache, daß Erzeugnisse in den Handel kamen, welche in der Praxis zahlreiche schwere Störungen, ja Todesfälle herbeiführten, so daß man eine radikale Aenderung in der chemischen Synthese vornehmen mußte. Als Erklärung der Tatsache, warum ein „605“, welches z. B. Spuren von Brom enthält, ein toxisches Neosalvarsan ergeben könne, lassen sich zwei verschiedene Hypothesen aufstellen. Man kann zunächst daran denken, daß das nicht genügend verseifte Anfangsprodukt als Beimengung im Endprodukt enthalten ist, welches folglich anstatt der OH-Gruppe Halogen enthält und so wie die Mono- oder Dihalogenverbindungen wirkt, welche, wie ich durch meine Untersuchungen an Ehrlichs Institut in Frankfurt bewies, eine weit größere Toxizität besitzen als die halogenfreie Verbindung. Das Monochlorosalvarsan, ein gelbes in Methylalkohol lösliches Pulver, welches mit Soda präzipitiert und sich im Ueberschuß wieder löst, wurde von Berthelm gewonnen: die von einer 20 g schweren Maus vertragene Dosis (bei subkutaner Einspritzung) ist 1 ccm einer Verdünnung 1:1500; die toxische Dosis ist 1:1200. Weniger giftig ist das Dichlorosalvarsan; die vertragene Dosis ist 1:600, die toxische Dosis 1:400; beim Kaninchen führen 0,05 g in 4 oder 5 Tagen zum Tode. Beim Vergleich mit dem „606“ ist es klar, daß die Einführung des Halogens in das Molekül

die Giftigkeit des Prozesses erhöht. Man kann sich aber auch vorstellen, daß aus der Halogenverbindung, welche neben dem „605“ bestehen blieb, das Halogen während der folgenden Manipulationen abgelöst wird (Reduktion, Sulphoxylation etc.) und eine den Halogenen entsprechende Wirkung ausübt.

Eine wenn auch nur indirekte Stütze für unsere Annahme, daß das als Unreinigkeit vorhandene Halogen Ursache eines Teiles der Arsenobenzolstörungen sein kann, gibt uns die Unregelmäßigkeit des Auftretens solcher Krisen. Sie treten nur bei einzelnen Individuen einer ganzen Reihe von behandelten Kranken auf, während das Präparat mit der gleichen Kontrollnummer anderen Patienten ohne üble Folgen verabreicht wurde. Daß verschiedene Organismen auf intravenöse Injektion so verschieden reagieren, erinnert daran, daß die einzelnen Individuen sich den Halogenen gegenüber verschieden verhalten, auch da, wo diese per os oder subkutan verabreicht wurden. Nicht allein das Halogen darf für solche Störungen verantwortlich gemacht werden: analoge Erscheinungen können auch durch Gegenwart der Amino- und der OH-Gruppe veranlaßt werden. Bei der synthetischen Erzeugung des Arsenobenzoles stellen diese Gruppierungen sehr heikle Bestandteile dar, mit Rücksicht sowohl auf die Haltbarkeit des Produktes, als auch auf die Giftigkeit desselben; ihr schädlicher Einfluß bei den kleinen Versuchstieren tritt nur selten zutage: ein Präparat mit 6 Aminogruppen und mit ausgezeichneten therapeutischen und toxikologischen Resultaten im Experiment an Mäusen hat beim Menschen schädliche Folgen gehabt. Die NH_2 - und OH-Gruppierungen müssen, durch bestimmte Schutzgruppen, so eingehüllt sein, daß sie erst nach und nach im Innern des Körpers frei gemacht werden. Und man wolle beachten, daß auch minimale Spuren von Verunreinigung die Veränderung der Verbindung in hohem Maße erleichtern. Solche Stabilisierung hat großen Wert auch aus anderen Erwägungen heraus, die hier entwickelt werden sollen. Es gibt Unzuträglichkeiten, die ihre Erklärung finden in sozusagen groben Veränderungen des Präparates, soweit solche hervorgerufen werden durch die Gegenwart fremder Substanzen, sei es auch nur in Gestalt von Verunreinigungen, die unter quantitativem Gesichtspunkte minimal scheinen

und der sorgfältigsten chemischen Kontrolle entweichen. Außer ihnen aber darf eine andere Art von Phänomenen nicht unbeachtet bleiben, sie haben eine Beziehung indirekter Art zur chemischen Konstitution der dargereichten Verbindung: sie zeigen sich selbst nach Injektion der reinsten und bestaufgebauten Präparate und bieten ein großes praktisches Interesse. Denn sie geben der Chemotherapie einen Fingerzeig, die Zusammensetzung des Präparates noch weiter zu modifizieren. Die Chemotherapie kann wirklich nicht an der Schwelle des Organismus halt machen. Mit wachsamem Auge muß sie den letzten Werdegang eines dargereichten Mittels verfolgen, muß von dem, was im Inneren des Körpers vor sich geht, für künftiges Handeln eine Richtschnur entnehmen.

Es gibt Menschen, welche die Arsenbenzolinjektion entschieden nicht vertragen. Das zeigt sich durch den Eintritt eines wohlbekannten Syndromes, Rötung des Gesichtes, Gefühl von Beängstigung schon während der Einspritzung, dann Uebelbefinden, Kopfschmerz, Erbrechen, leichter Schüttelfrost, leichter Temperaturanstieg: man beobachtet dieses Syndrom schon nach Injektion weniger Zentigramme des Mittels. Das unterscheidende Charakteristikum solcher Intoleranz liegt darin, daß die Symptome leicht und schnell vergänglich sind, aber sich wiederholen und schwerer werden bei einer zweiten Injektion und noch mehr bei einer dritten. Oft kann die dritte oder vierte Injektion nicht zu Ende geführt und muß unterbrochen werden, wenn erst ein Teil des beabsichtigten Quantum verabreicht ist.

In verschiedenen Fällen zeigt sich eine solche Intoleranz nicht schon während der ersten Einspritzung. Man beobachtet sie erst bei der Fortsetzung, nach wiederholter Behandlung, gerade als ob der Organismus nur ganz allmählich gegenüber den Arsenobenzolen jene Intoleranz erworben hätte.

Mit um so größerer Aufmerksamkeit wird ein solcher Verlauf der Vorgänge verfolgt, je häufiger solche Fälle werden durch die gewaltige Verbreitung und häufige Anwendung der Arsenobenzole: es drängt sich auf, ihre Genese zu studieren, um zu sehen, ob und wie sich Abhilfe schaffen läßt.

Es ist bekannt, daß unter den Reduktionsprodukten der Phenylarsinsäuren die Arsenoxyde die giftigsten sind; es ge-

nügt ein Blick auf die folgende Tabelle, in der die für Mäuse tödliche Dosis der Säuren und ihrer Derivate, und zwar in ihren beiden Reduktionsstufen (Oxyde und Arsoderivate) angegeben ist:

| | Säuren R—As O ₃ H ₂ | Oxyde R—As O | Arsoderivate R—As = As—R |
|------------------------|--|-----------------|-----------------------------|
| NH ₂ | 1:200 | 1:15 000 | 1:6000 |
| OH | 1:75 | 1:13 000 | 1:1000 |
| NHCH ₂ COOH | 1:20 | 1:1000 | 1:70 |

Im Inneren des Körpers wird das Arsoderivat tiefgehenden Abbauprozessen unterzogen. Es kommt zur Ausscheidung von Gruppierungen in meta- und para-Stellung, und schon dies führt zu Verbindungen, welche giftiger sind, als das eingeführte Arsoderivat. Man mag sich in der Tat der Ehrlichschen Vorschrift über die Synthese organischer Arsenderivate erinnern: „oben verstärken, unten entgiften“; ferner hat man die Bildung von Arsenoxyd, das, wie angegeben, noch giftiger ist: vollzieht sich nun die Aufarbeitung langsamer, sozusagen schrittweise, dann hat man ebenfalls einen schrittweisen Abbau bis zu weniger giftigen Produkten und gleichzeitig die Entfernung durch die Ausscheidungsorgane; aber es gibt Organismen, in denen vollziehen sich die Aufarbeitungsprozesse besonders rasch, ein belangreiches Quantum giftiger Produkte bildet sich stürmisch und häuft sich in gefahrdrohender Weise an, und so hat man dann die beklagten Zustände. Man kann sich ganz gut vorstellen, daß diese Veranlagung zu einem besonders raschen Abbau des Arsenobenzolmoleküls fortschreitend erworben werden kann, in dem Maße, wie die in der vorangegangenen Reihe injizierten Substanzen aufgearbeitet worden sind. Fragt sich der Chemotherapeut in dieser Lage: Quid agendum? so wird die Antwort sein: so auf das Arsenobenzolmolekül einzuwirken, daß es stabiler wird, infolgedessen erfordert seine Aufspaltung mehr Zeit und eine größere Energie seitens des Organismus.

Wenn die Dinge wirklich so liegen, das heißt also, wenn in derartigen Fällen die beklagten Unzuträglichkeiten einer besonderen angeborenen oder erworbenen Veranlagung zuzuschreiben sind, der zufolge der Organismus die einverleibten Stoffe zu schnell verarbeitet, so daß er stürmisch eine Häufung

giftiger Zwischenprodukte erlebt, dann ist die Annahme erlaubt, solche Individuen würden Verbindungen weit besser vertragen, in welchen — wie im Neargiolo I. C. I. — die Stabilität des Arsenobenzols besonders beträchtlich ist. Die ersten klinischen Beobachtungen scheinen diesen Gesichtspunkt bestätigen zu wollen¹⁾. Diese Resultate muß man in angemessener Weise mitberücksichtigen, um die klinische Anwendbarkeit von Neo resp. Neosalvarsan etc. und den Derivaten Silbersalvarsan zu vergleichen.

Es wäre unzutreffend, wenn jemand unter dem Eindruck der Tierexperimente dazu käme, die Silberkomponente abzuweisen, weil beim Tier sie sich einigermaßen giftiger zeigt, als das betreffende Präparat ohne Silber. Will der Forscher sein höchstes Ziel nicht aus dem Auge verlieren — den Kranken zu heilen —, dann wird er nicht umhin können, seine Tierversuche durch Erwägungen über den Menschen zu ergänzen und das Dilemma so zu stellen: Das Arsenobenzol, welches an sich minder giftig ist als das silberhaltige Derivat, stößt zuweilen auf jene Unzuträglichkeiten aus Gründen, welche im Organismus des Menschen liegen, und der Beobachtung des Arztes sowie seiner Einwirkung nicht zugänglich sind. Das Silberderivat des Arsenobenzols, um ein wenig giftiger, bietet hingegen infolge seiner stabilen Konstitution die oben erwähnten Gefahren nicht. Es folgt daraus, daß das Silberderivat — *ceteris paribus* — wirklich den Vorzug verdient, besonders wenn man die breite Zone berücksichtigt, welche in solchen Präparaten zwischen der tödlichen und der heilenden Dosis liegt. Um diesen theoretischen Punkt zur Entscheidung zu bringen, mag bei diesem Anlaß die Bemerkung angebracht sein, daß nicht etwa ebensogut das Neosilbersalvarsan dienen kann. Denn in diesem Präparat ist neben der Silbersalvarsanverbindung nach Kolle noch Neosalvarsan als solches enthalten. Somit hat hier ein Teil der Substanz eben dieselbe Labilität, wie das reine Neosalvarsan. Es ist gewiß: eine der handgreiflichsten Aufgaben der Chemotherapie liegt darin, die Aufarbeitung des Arseno-

1) So aus Berichten von Proff. Cesa-Bianchi, Preti, Vallardi Rebaudi u. a. m.

benzolkörpers seitens des organischen Metabolismus zu verzögern und abzustufen. In Italien ist das Problem auf das glücklichste gelöst durch Professor Antonio Pieroni vom Istituto Chemioterapico Italiano.

Die oben erwähnten Erwägungen spiegeln sich in dem Gang der Kontrollversuche. Nie soll man dem Patienten und dem Arzt die größtmögliche Sicherheit geben, daß der Stoff, den man eben einverleiben will, gut vertragen wird. Es ist klar, es gibt keinerlei Verlaß über die Art, wie die Verbindung im Organismus des Menschen sich zerlegt, außer durch Versuche eben am Menschenorganismus. Nur der klinische Versuch, der die üblichen physikalischen, chemischen und biologischen Erprobungen ergänzt, kann uns beruhigen, sofern er uns das Vertrauen gibt, die Reihe der fraglichen Produkte werde gut vertragen. Außer Betracht bleiben natürlich einzelne individuelle Abweichungen, aber die bilden ein dunkles Gebiet, das, wie ich glaube, schwer auszuschalten sein wird.

Es ist ja sicher, auf die physikalischen Eigenschaften allein kann man sich nicht verlassen; der chemische Versuch ist für jede Operation nötig; doch auch er reicht nicht völlig aus.

Ehrlich, der große Forscher, dessen Verdienst nach seinem Tode immer deutlicher zutage tritt, hat mit peinlichster Sorgfalt und mit höchster Weisheit eine ganze wunderbare Schule organisiert, um diese Produkte einer ganz genauen experimentellen biologischen Durchprüfung zu unterwerfen. Es war die Absicht des Meisters, die größere Sensibilität des tierischen Organismus gegenüber den feinsten chemischen Anzeichen nutzbar zu machen. Und er hat dieser Frage ein sozusagen mathematisches Kriterium zugrunde gelegt. Dies besteht im Verhältnis zwischen der Zahl der mit Proben der einzelnen Serien, und zwar in bestimmter Grendosis, injizierten Tiere zu der Zahl der am Leben bleibenden.

Aber in jüngster Zeit machte sich das Bedürfnis nach einer noch sichereren Erprobung geltend. Man vergleiche z. B. die Diskussion, welche am 25. I. 1922 in Berlin in der Medizinischen Gesellschaft stattgefunden hat, wo ein Kreis von Gelehrten und von praktischen Aerzten Arsenobenzol-

probleme erörtert hat, insbesondere, ja ausschließlich im Hinblick auf deutsche Produkte. Kolle hat mitgeteilt, daß er die verschiedenen Serien auch klinisch ausprobiert. Kleine Dosen werden Kranken verabreicht: diejenigen Serien, welche Störungen verursachen, werden ohne weiteres aus dem Handel gezogen.

Aber daß kleine Dosen vollständig gut vertragen werden, dies sagt doch zu wenig darüber, wie stärkere Dosen vertragen werden würden. Statt die Kontrolle folgen zu lassen, wenn die Serie in den Handel gebracht worden ist und die eventuell noch unverbrauchten Ampullen einzuziehen, scheint eine klinische Kontrolle besser angezeigt, welche dem Vertrieb dieser Serie vorausgeht.

Da könnte aber jemand ein Bedenken von sozusagen sozialem Charakter aufwerfen: im letzten Grunde, könnte er bemerken, wird bei der hier bezeichneten Anordnung das experimentum crucis am Menschen ausgeführt statt am Tier. Der Mensch nimmt in gewisser Weise den Platz des Versuchstieres ein. Dieser Einwand hat keine Daseinsberechtigung. Denn diese klinische Anwendung dient nicht dazu, jene Zahl von Versuchen zu ersetzen, welche seither für nötig und hinreichend befunden wurde, damit das Produkt in den Handel gebracht werden könnte, sondern nur, sie zu ergänzen: die klinische Kontrolle geht nicht von einem Produkt aus, dessen Giftwirkung noch unsicher wäre, sondern von einer schon verkaufsfähigen Verbindung, an der man nur noch feststellen will, wie rasch diese bestimmte Serie im Organismus eines Menschen aufgearbeitet wird. Man wolle auch beachten, daß ein solcher Versuch an Individuen gemacht werden muß, welche in sorgfältiger Beobachtung und bei geeigneter Diät gehalten werden. In solchen Individuen können die etwaigen Abweichungen schlimmstenfalls in geringer Temperatursteigerung und vorübergehenden angioneurotischen Störungen bestehen; würden dagegen die Proben solcher Serien ambulatorisch behandelten Personen verabreicht, die nicht ebenso rigoros beobachtet werden können, dann könnten sich wohl auch einmal schwerere Störungen ergeben.

Dies ist es, weshalb jede Probe von Arsenobenzol aus dem Istituto Chemioterapico Italiano nach vorangegangener

chemischer und biologischer Kontrolle Kranken verabreicht wird, meistens solchen, welche an schweren Formen viszeraler Syphilis leiden. Die betreffende Kontrollnummer wird erst in den Handel gebracht, nachdem ein günstiger Verlauf dieser Darreichung bewiesen hat, daß sie vollkommen gut vertragen wird. Somit geht die klinische Kontrolle dem Vertrieb des Mittels voraus. Sie besteht in Injektion von Dosen, welche in keinem Fall geringer sind als jene, in denen die fragliche Serie in das Publikum gelangt. Und sie wird an Fällen ausgeführt, die schwerer sind, die aber mit besonderer Sorgfalt beobachtet und behandelt werden. Auf solche Weise wird die Sicherheit gewonnen, daß, soweit dies von dem Produkt abhängt, kein unliebsamer Zwischenfall aus seiner Darreichung an Patienten abgeleitet werden kann.

Die oben angeführten Ueberlegungen haben mehr Interesse beim Neosalvarsan als beim Altsalvarsan, da man bei diesem letzten durch Bildung von Dichlorhydrat zu einer Reinigung kommen kann, während beim Neosalvarsan eine solche technische Hilfe nicht möglich ist. Größer an Zahl und interessanter sind die Erörterungen, welche nicht mehr das Salvarsan als solches, sondern sein monosulphoxyliches Salz, das Neosalsarsan oder „914“ betreffen; das wegen seiner Löslichkeit heutzutage im allgemeinen Gebrauch steht. Beim Neosalvarsan haben sich viele Verbesserungen anbringen lassen. Es handelt sich um Veränderungen, mit denen eine Anzahl hervorragender Chemiker sich seit Jahren, und zwar besonders in Deutschland, beschäftigen, und die den Aerzten und Pharmakologen ganz unbekannt sind, auch wenn sie die verschiedenen Präparate des Neosalvarsans auf ihre therapeutischen und toxikologischen Resultate hin miteinander vergleichen.

Auf diese Weise ist es erklärlich, wie es kommt, daß in der Literatur über diesen Gegenstand sich so verschiedene und auch ganz entgegengesetzte Meinungen begegnen. Betrachten wir z. B. das deutsche Neosalvarsan. Die ersten Darstellungen waren von Ehrlich im Laboratorium des Georg Speyer-Hauses folgendermaßen ausgeführt worden:

Zu einer wässerigen Lösung von Dioxydiaminoarsenobenzoldichlorhydrat wird eine Hyraltitlösung gegeben, und nach leichter Erwärmung das entstandene Präzipitat mit Soda wieder aufgelöst; man erhält so eine

neutrale Lösung des Monosulphoxylats, und mit durch solche Technik hergestellten Lösungen wurden die ersten experimentellen und klinischen Versuche ausgeführt. Später gelang es, die so erhaltene Lösung in Alkohol und Aether zu fällen, und es kamen Neosalvarsanpräparate in den Handel, die eine gelbrötliche Färbung und einen starken Arsengehalt hatten (D.R.P. 247756). Durch weitere nachfolgende technische Aenderungen fand man, daß sich der Weg über „606“ ausschalten ließe, und man direkt zum Neosalvarsan gelangen konnte durch Reduktion der p-oxy-m-nitrophenylarsensäure (D.R.P. 263460) und ihrer partiell reduzierten Derivate: des Amin (D.R.P. 263460 B. II), des Oxyds (D.R.P. 264014) und des Dinitroarsenoderivates (D.R.P. 271893).

Endlich sah man, daß es für die Beständigkeit des Produktes ratsam sei, zu den Grundpräparaten andere Substanzen hinzuzufügen. So entstanden Produkte, die nicht mehr die theoretischen Prozente an Arsen, sondern 21 Proz. enthielten. In Wirklichkeit schwankt der Arsengehalt des Neosalvarsans in seinen verschiedenen Herstellungsformen, wie auch Jachimoglu kürzlich berichtete. In einer Reihe von Analysen neuerer Präparate haben wir folgende Prozentzahlen gefunden: 18,7 Proz., 19 Proz., 18,9 Proz. Die Möglichkeit, den Prozentgehalt des Arsens herabzusetzen, wurde von den verschiedenen Fabriken benutzt, um Substanzen hinzuzufügen, welche dazu dienen, das Grundprodukt vor zu leichter Zersetzbarkeit zu schützen. Der Arzt weiß nicht einmal etwas von der Gegenwart dieser Substanzen; und wenn sie auch an sich für den Patienten unschädlich sind, darf man sie doch nicht übersehen, wenn man die Giftigkeit des Präparates erörtern will. Sie können recht verschiedene oder jedenfalls untereinander nicht identische Verbindungen einander gleich erscheinen lassen.

Wir hatten z. B. Gelegenheit, kürzlich eine Probe Neojakol zu untersuchen, ein Präparat, welches mit dem deutschen Neosalvarsan identisch sein soll; das Pulver hatte eine intensiv gelbe Farbe; wenn man es in Wasser löste, unterschied man deutlich einen leichtlöslichen Bestandteil von grünlichgelber Färbung und einen schwerer löslichen Teil von lebhaft roter Färbung. Dieser zweite Teil der Substanz war so wenig löslich, daß er, wenn man ihn an die Oberfläche einer geringen Flüssigkeitsmenge (0,15 in 3 ccm) brachte, sofort auf den Boden des Röhrchens sank und sich dort erst langsam auflöste; die Lösung blieb von grünlichgelber Farbe, aber beim Stehenlassen trübte sie sich schnell und der Niederschlag löste sich nicht durch Zusatz von Alkali. Das war so, als ob man ein Gemenge vor sich hätte, in welchem ein schlecht reduziertes oder durch Oxydation oder durch Sulphorisierung verdorbenes Sulphoxylderivat und ein sehr starker Ueberschuß des Re-

duktionsmittels zusammen zur Fällung gekommen wären. Bei Vollzug der Lösung löste sich der Reduktor sofort auf, und wirkte dann durch seine Gegenwart auf die nachfolgende Auflösung der Verbindung, indem er sie entfärbte. Spätere Präparate derselben Firma zeigten weder die deutliche Trennung der beiden Substanzen, noch die Bildung eines Niederschlages mit den eben beschriebenen Eigenschaften.

Wie kann nun der Arzt sich ein Urteil über die wahre Ursache der Giftigkeit der Arsenobenzole bilden, wenn er nicht vollkommen genau ihre innere Zusammensetzung kennt und wenn diese Zusammensetzung (wenn auch nur zu ihrer Vervollkommnung) häufig sich ändert? Die hier folgenden Seiten geben ein klares Beispiel von Abänderungen in der Zusammensetzung des Präparates und erklären, wie es möglich sein kann, daß im Laufe einer Diskussion so entgegengesetzte Meinungen ausgesprochen werden; ich meine hiermit die umstrittene Frage der Oxydierbarkeit des Neosalvarsan. Eine höchst wichtige Frage für die praktische Anwendung am Krankenbett.

Bei diesem Problem hat man mehrere Etappen zu unterscheiden. Ehrlich gelangte zum Neosalvarsan, indem er beobachtete, daß, während eine alkalische Lösung von „606“ beim Stehenlassen an der Luft an Giftigkeit zunahm, eine gleiche Lösung, zu welcher man Hyraldit hinzugefügt hatte, nicht giftiger wurde. (Schlußfolgerungen Salvarsan, II S. 596, Lehmanns Verlag [1912]; Schlußfolgerungen Salvarsan, III S. 556, Ebenda [1913].) Ehrlich hat aus dieser Beobachtung den Schluß gezogen, daß der Zusatz von Hyraldit zu einer Lösung von „606“ sozusagen wie ein Blitzableiter wirken müsse, nämlich in dem Sinne, daß er den Sauerstoff an sich fesselt und so die Arsenverbindung vor Oxydation schützt. Dem Schema von Ehrlich und seinen Versuchen zufolge wird das „606“ + Hyraldit die Fähigkeit besitzen müssen, der Oxydation besser zu widerstehen. Als man aber, um dem Arzt die Manipulation zu ersparen, das Hyraldit mit der Substanz vereinigte, gelangte man zu einer Verbindung, welche man zwar noch als Neosalvarsan bezeichnete; sie war leicht löslich und reagierte leicht alkalisch, aber sie oxydierte mit größerer Leichtigkeit.

Die Protokolle und Tabellen, die ich folgen lasse, beziehen sich eben auf diese Verbindung, nämlich Neosalvarsan von Meister & Lucius, Höchst a. M. Die Experimente wurden alle mit der größten Genauigkeit und einem großen Aufwand von Tieren unter täglicher Kontrolle von Ehrlich ausgeführt und wurden in seinen lichtvollen Jahresberichten über Salvarsan und Neosalvarsan ausführlich dargelegt; sie beweisen, daß im Gegensatze zu den theoretischen Gesichtspunkten und

den ersten Experimenten das so erhaltene Neosalvarsan (ich möchte es zum Unterschied von dem oben beschriebenen „Neosalvarsan II“ nennen) noch viel schneller oxydierte als das alte Salvarsan.

Das Dioxydiaminoarsenobenzol ist eine Verbindung von sehr geringer Giftigkeit für die Versuchstiere. Die Versuche von Hata ergaben für das Salvarsan als vertragbare Dosis für jede 20 g-Maus (subkutane Verabreichung) 1 ccm von einer Lösung 1:300. Die verbesserte Herstellungs- und Reinigungstechnik hat später diese Grenze bis auf 1:150 hinaufgerückt (stets bei subkutaner Injektion). (Siehe Tab. I.) Die Injektion

Tabelle I.
Toxizität des Salvarsans bei Mäusen.

| Präparat No. | Injizierte Mäuse (subkutan) | Verdünnung | Ergebnis |
|--------------|-----------------------------|------------|----------------|
| C 391 | 4 | 1:150 | 4 Mäuse gesund |
| 104 | 8 (No. 5—12) | 1:125 | 5 „ „ 3 tot |
| | 4 (No. 13—16) | 1:150 | 4 „ „ |
| | 4 (No. 17—20) | 1:125 | 4 „ „ |
| H 384 | 4 (No. 21—24) | 1:150 | 4 „ „ |
| | 4 (No. 25—28) | 1:125 | 3 „ „ 1 tot |
| H 386 | 4 (No. 29—32) | 1:150 | 4 „ „ |
| | 4 (No. 33—36) | 1:125 | 4 „ „ |
| H 387 | 4 (No. 37—40) | 1:150 | 4 „ „ |
| | 4 (No. 41—44) | 1:125 | 4 „ „ |
| H 388 | 4 (No. 45—48) | 1:150 | 4 „ „ |
| | 8 (No. 49—56) | 1:125 | 4 „ „ 4 tot |
| H 390 | 4 (No. 57—60) | 1:150 | 4 „ „ |
| | 4 (No. 61—64) | 1:125 | 2 „ „ 2 tot |
| H 391 | 4 (No. 65—68) | 1:150 | 3 „ „ 1 tot |
| | 4 (No. 69—72) | 1:125 | 4 „ „ |
| H 392 | 4 (No. 73—76) | 1:150 | 4 „ „ |
| | 4 (No. 77—80) | 1:125 | 4 „ „ |
| H 393 | 4 (No. 81—84) | 1:150 | 4 „ „ |
| | 4 (No. 85—88) | 1:125 | 4 „ „ |

von 1 ccm bei 1:125 (für je 20 g des Mäusegewichts) führt nur bei einem Teil der behandelten Tiere zum Tode. Als Neosalvarsan kann das Dioxydiaminoarsenobenzol intravenös verabreicht werden in Dosen von 1 ccm bei einer Lösung 1:200. (Siehe Tab. II.) Wenn es gestattet wäre, die Aufnahmefähigkeit von Tieren zu der von Menschen in Beziehung zu setzen, dann käme man zur Schlußfolgerung, daß die ver-

Tabelle II.
Toxizität des Neosalvarsans bei Mäusen.

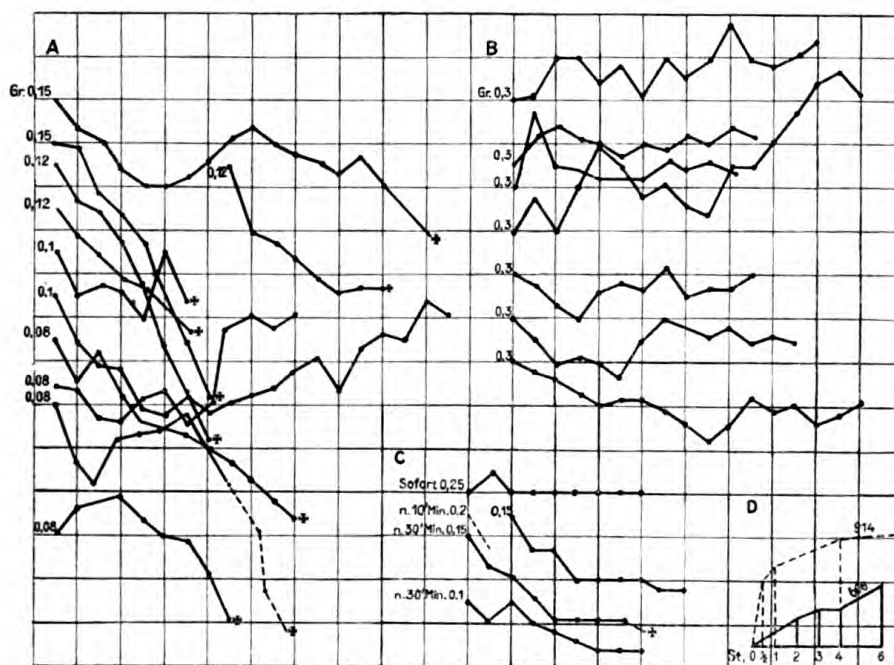
| Präparat No. | Injizierte Mäuse (intravenös) | Verdünnung (1 ccm pro 20 g Mäusegewicht) | Ergebnis |
|--------------|-------------------------------|--|----------------|
| Neo 71 | 4 (No. 89—92) | 1:200 | 4 Mäuse gesund |
| | 4 (No. 93—96) | 1:180 | 3 „ „ 1 tot |
| Neo C. 103 | 4 (No. 97—100) | 1:200 | 4 „ „ |
| | 4 (No. 101—104) | 1:180 | 3 „ „ 1 tot |
| Neo C. 104 | 4 (No. 105—108) | 1:200 | 4 „ „ |
| | 4 (No. 109—112) | 1:180 | 3 „ „ 1 tot |
| Neo C. 105 | 4 (No. 113—116) | 1:200 | 4 „ „ |
| | 4 (No. 117—120) | 1:180 | 3 „ „ 1 tot |
| Neo C. 106 | 8 (No. 121—128) | 1:200 | 7 „ „ 1 tot |
| | 4 (No. 129—132) | 1:180 | 4 „ „ |
| Neo 72 | 4 (No. 133—136) | 1:200 | 4 „ „ |
| | 4 (No. 137—140) | 1:180 | 2 „ „ 2 tot |

tragene Salvarsandosierung für einen Menschen von 80 kg Gewicht ca. 26,4 g sein müsse. Die Versuchstiere können ohne Schaden hintereinander viele Injektionen von Dioxydiaminoarsenobenzol vertragen, beispielsweise hat man am Kaninchen in einem Zeitraum von 139 Tagen 66 aufeinanderfolgende Einspritzungen von 6,8 g Salvarsan resp. 11,25 g Neosalvarsan verabreicht, und zwar auf intravenösem Wege. Diese Tiere wogen bei Beginn der Behandlung 2300 g und hatten am Ende dieses Zeitraumes ein Gewicht von 3000 g erreicht. Die Giftigkeit dieser Substanz erhöht sich ziemlich unter der Einwirkung verschiedener Faktoren; besonders durch die Unreinheit des Wassers, welches zu der Lösung verwendet wird, und durch den Sauerstoff der Luft; dieser letztgenannte Faktor hat eine Zeitlang bei der Verwendung der Arsenobenzole eine ganz besondere Rolle gespielt, er hat heute, den obigen Bemerkungen zufolge, ein vorwiegend historisches Interesse. Dennoch halte ich es nicht für überflüssig, von Untersuchungen zu berichten, die bis jetzt noch nicht ausführlich veröffentlicht wurden, schon aus dem Grunde, weil einige sich über diese praktisch wichtige Tatsache hinwegsetzen, außerdem, weil ich mir vorgenommen habe, in einer Reihe von späteren Versuchen zu ermitteln, ob dem Oxydationsprodukt des Neosalvarsans nicht etwa neben der gesteigerten Giftigkeit auch eine gesteigerte Heilkraft innewohne, verglichen mit dem ur-

sprünglichen Erzeugnis. Die auffallende Zunahme an Giftigkeit der Arsenobenzole, besonders des Neosalvarsan von Meister & Lucius (welches wir hier Neosalvarsan zweiter Art nennen wollen) durch die Wirkung der Luft wurde schon in meiner ersten Veröffentlichung über die Giftigkeit und Heilkraft des Neosalvarsans hervorgehoben. Bei den Untersuchungen, die angestellt wurden, um die vertragene Dosis des Heilmittels festzustellen, hatte ich ungleiche Daten erhalten, die jedoch immer ungünstig lauteten, solange ich bei der Vorbereitung und Darreichung der Lösung nach einer Technik verfuhr, die bei anderen Substanzen in Gebrauch war, vor allem ohne die Substanz vor Berührung mit der äußeren Luft zu schützen. Die Befunde wurden jedoch viel günstiger, sobald ich ein abweichendes Verfahren anwandte. Es fehlte nicht, neben zahlreichen Bestätigungen, an Verfassern, welche eine solche Zersetzbarkeit der in Frage stehenden Verbindung bezweifelten, aber sie haben der entgegengesetzten Behauptung keine objektiven Untersuchungen zugrunde gelegt. Vom theoretischen Standpunkte ist es nicht zu verwundern, daß eine Verbindung, die so zusammengesetzt ist wie das Neosalvarsan, sich leicht an der Luft zersetzt, wenn man sich den Einfluß der sulphoxylischen, an das Molekül des Dioxydiaminoarsenobenzols gebundenen Gruppe vergegenwärtigt, und die Avidität nach Sauerstoff, welche die Verbindungen mit reduziertem Arsen besitzen. Wir denken hierbei an die Tatsache, daß eine Probe von Arsenophenylglyzin, die von Frankfurt nach Batavia gesandt und zurückgeschickt wurde, nach Prüfung von Bertheim ein Gehalt von 17,5 Proz. des entsprechenden Oxydes ergab, und dieses Oxyd ist viel giftiger als das Arsenobenzolderivat. Um im übrigen die Umwandlung des Neosalvarsans zweiter Art zu beweisen, kommen ausschließlich die Ergebnisse des Experimentes in Betracht.

Ich gebe hier eine Reihe von vergleichenden Versuchen wieder, in denen die erhöhte Giftigkeit durch Versuche an Mäusen erwiesen wird. Kurve 2 D enthält die graphische Darstellung der Versuche, in der die entsprechenden Ermittlungen Frl. Leupolds zusammengefaßt sind. Die punktierte Linie zeigt den Zuwachs der Giftigkeit des Neosalvarsans bei subkutaner Injektion, die ausgezogene Linie den Zuwachs der

Giftigkeit des Salvarsans bei intravenöser Injektion. Die Giftigkeit des Neosalvarsans steigt auf das Doppelte durch Stehenlassen der Lösung an der Luft während einer halben Stunde; sie steigt auf das Dreifache nach einem einstündigen Stehenlassen, während die Giftigkeit des Salvarsans in alkalischer Lösung auch wächst, aber in geringerem Maße. Der gleiche



Kurve 2.

- A Gewichtskurve der mit Neosalvarsan II behandelten Tiere (Herstellung der Lösung wie üblich an der Luft).
 B Gewichtskurve der mit Neosalvarsan II unter Ausschluß von Luft behandelten Tiere.
 C Gewichtskurve der mit Neosalvarsan II behandelten Tiere. (Die Injektion ein und derselben Lösung wurde nach verschiedenen Zeitabständen, wie angegeben, gemacht.)
 D Vergleichende Toxizitätskurve bei Mäusen mit 606 und 914 nach den angegebenen Zeitabständen (nach Frl. Leupold).

Jede vertikale Teilung = 48 Stunden; jede horizontale = 100 g Gewichtsabnahme.

Sachverhalt kommt in der graphischen Darstellung in der Kurve 2 A, B, C zum Ausdruck. Hier werden die Gewichtskurven der Kaninchen wiedergegeben, welche eine Neosalvarsaneinspritzung erhalten haben, und auch in diesem Falle beziehen wir uns auf Neosalvarsan II. In einer ersten Reihe von Tieren ist das Mittel auf intravenösem Wege ein-

gespritzt worden, und zwar unter Anwendung derselben Technik, welche zur Präparation und Einspritzung anderer Substanzen dient. Die Gewichtskurven der Tiere (Kurve 2 A) beweisen, daß 0,1 g oder auch 0,08 g pro Kilo des Tiergewichts eine konstante Verminderung des Gewichts und schließlich den Tod des Tieres verursachen. Bei anderen Tieren wurde die Lösung mittels einer geeigneteren Technik verabreicht, um die Oxydation des Mittels auf das Mindestmaß zu beschränken. Eine weite graduierte Bürette aus Jenaer Glas wurde oben mit einem dreimal durchbohrten Pfropfen und unten mit einem Gummischlauch und einer Nadel versehen; auf dem Boden der Burette war eine kleine durchlöchernte Platte aus Glas. Durch die Löcher des Pfropfens gingen: 1) eine Glasröhre, welche mit einer Gummibirne in Verbindung stand; 2) ein Scheidetrichter; 3) ein Rührstab, der bis auf den Boden der Röhre reichte. Um die Einspritzung zu machen, ging ich folgendermaßen vor: Ich tat in das Gefäß Wasser, welches in einem Apparat aus Jenaer Glas frisch destilliert war, und nachdem ich den Gummischlauch unmittelbar unten am Glasrohr mit einer Klemme verschlossen hatte, schüttete ich das schnell abgewogene Pulver durch den Trichter. Durch Auf- und Abführen des Rührstabes sorgte ich für gleichmäßige Verteilung der Lösung. Alsdann hob ich den Rührstab bis über das Flüssigkeitsniveau, führte die Nadel in die Vene ein und injizierte unter Einpressen von Luft das gewünschte Flüssigkeitsvolumen. Die Menge der fertigen Lösung war größer als die einzuspritzende, so daß der obere Teil nicht gebraucht wurde. Man hätte die Gummibirne durch den Schlauch einer, ein indifferentes Gas enthaltenden Stahlflasche ersetzen können. Aber ich habe schon mit dieser Technik die Resultate erhalten, die in Kurve 2 B wiedergegeben sind, d. h. man konnte ohne Unzuträglichkeiten eine Dosis von 0,3 g Neosalvarsan pro Kilo Tier injizieren. Bei einer anderen Reihe von Kaninchen habe ich die Versuche folgendermaßen angeordnet: Ich bereitete eine Lösung von Neosalvarsan und spritzte dem ersten Tiere 0,25 g pro Kilogewicht ein, mittels der eben beschriebenen Technik. Ich ließ die Lösung 10 Minuten an der Luft und injizierte zwei Tieren die entsprechenden Mengen, 0,2 g und

8*

0,15 g. Ich ließ dann dieselbe Lösung wieder 20 Minuten lang an der Luft und spritzte zwei anderen Kaninchen 0,1 und 0,15 g (pro Kilogewicht) ein. Die in der Kurve 2 C angegebenen Tabellen zeigen, daß das erste Kaninchen am Leben blieb und absolut keine Gewichtsabnahme aufwies, und daß das zweite Kaninchen schon nach 24 Stunden starb. Das dritte Kaninchen blieb zwar am Leben, aber es nahm 200 g in den ersten 3 Tagen nach der Einspritzung ab. Das vierte Kaninchen verlor schnell an Gewicht und starb binnen 9 Tagen; das fünfte Kaninchen nahm auch erheblich an Gewicht ab, obwohl es eine Gabe erhalten hatte, die kleiner war als die Hälfte der von Kaninchen No. 1 erhaltenen Dosis.

Tabelle III.

Ueber die Giftigkeit der Arsenobenzole.

| Salvarsan-Einspritzungen. | Neosalvarsan-Einspritzungen. |
|---|--|
| A. Frisch präparierte Lösung. | A. Frisch präparierte Lösung. |
| Verd. | Verd. |
| 1:200, Mäuse 3, Ausg. 3 gesund | 1:260, Mäuse 2, Ausg. 2 gesund |
| 1:180, „ 5, „ 5 „ | 1:200, „ 2, „ 2 „ |
| | 1:132, „ 2, „ 2 „ |
| B. 5 Min. n. Zubereit. d. Lös. | B. $\frac{1}{2}$ Std. n. Zubereit. d. Lös. |
| Verd. | Verd. |
| 1:250, Mäuse 2, Ausg. 2 gesund | 1:333, Mäuse 2, Ausg. 2 gesund |
| 1:225, „ 2, „ 2 „ | 1:260, „ 2, „ 2 tot |
| 1:200, „ 2, „ 1 kr., 1 tot | 1:200, „ 2, „ 2 „ |
| C. 1 Std. n. Zubereit. d. Lös. | C. 1 Std. n. Zubereit. d. Lös. |
| Verd. | Verd. |
| 1:350, Mäuse 2, Ausg. 2 gesund | 1:400, Mäuse 2, Ausg. 2 gesund |
| 1:300, „ 2, „ 2 „ | 1:333, „ 2, „ 2 tot |
| 1:250, „ 2, „ 1 kr., 1 tot | 1:260, „ 2, „ 2 „ |
| 1:225, „ 2, „ 2 tot | |
| D. 2 Std. n. Zubereit. d. Lös. | D. 2 Std. n. Zubereit. d. Lös. |
| Verd. | Verd. |
| 1:275, Mäuse 2, Ausg. 1 tot, 1 ges. | 1:600, Mäuse 2, Ausg. 2 tot |
| 1:250, „ 2, „ 2 „ | 1:400, „ 2, „ 2 „ |
| 1:225, „ 2, „ 2 „ | 1:333, „ 2, „ 2 „ |
| 1:200, „ 2, „ 2 „ | 1:260, „ 2, „ 2 „ |
| E. $2\frac{1}{2}$ Std. n. Zubereit. d. Lös. | |
| Verd. | |
| 1:300, Mäuse 2, Ausg. 1 kr., 1 tot | |
| 1:275, „ 2, „ 1 „ 1 „ | |
| 1:250, „ 2, „ 2 tot | |
| 1:225, „ 2, „ 2 „ | |
| F. 6 Std. n. Zubereit. d. Lös. | |
| Verd. | |
| 1:500, Mäuse 1, Ausg. 1 gesund | |
| 1:400, „ 2, „ 2 tot | |
| 1:300, „ 2, „ 2 „ | |
| 1:250, „ 2, „ 2 „ | |

Um zu sehen, ob der Zunahme an Giftigkeit des Oxydationsproduktes des Neosalvarsans eventuell eine Zunahme an Heilkraft entspreche, habe ich vorerst zur Kontrolle verschiedene Reihen von normalen Mäusen mit frisch präparierten Salvarsan- und Neosalvarsanlösungen injiziert. Dieselben Lösungen wurden sodann, nachdem sie 5 Minuten, $\frac{1}{2}$, 1, 2, $2\frac{1}{2}$ oder 6 Stunden in offenen Gefäßen gestanden hatten, Mäusen injiziert.

Die Lösungen waren klar geblieben, mit Ausnahme der letzten, welche sich getrübt hatte, so daß man einige Tropfen Natriumhydroxyd hinzufügen mußte. Das Resultat dieser Untersuchungen (siehe Tabelle III) erweist eine erhebliche Zunahme der Giftigkeit der eingespritzten Substanz. Bei einer anderen Serie von Mäusen, welche mit Rückfallfieber infiziert worden waren, habe ich Salvarsan auf intravenösem Wege in verschiedenen Zeitabständen nach Zubereitung der Lösung injiziert; 5 Mäusen habe ich eine eben vorher zubereitete Salvarsanlösung eingespritzt, und 5 anderen dieselbe Lösung, nachdem sie 30 Minuten an der Luft gestanden hatten (siehe Tabelle IV); bei 8 anderen Mäusen habe ich dieselbe Behandlung wiederholt, und bei einer dritten Serie habe ich 3 Tieren die frisch bereitete Lösung, 4 Tieren dieselbe Lösung nach einstündigem Stehenlassen an der Luft und in geeigneter Verdünnung, und schließlich 5 anderen Tieren dieselbe Lösung

Tabelle IV.

Heilwirkung des Salvarsans bei experimentellem Rückfallfieber. (Auf je 20 g Mäusegewicht wurde 1 ccm der Lösung injiziert; Verdünnung wie angegeben.)

| Maus No. | Sofort eingespritzte Lösung | | | | | Nach $\frac{1}{2}$ stünd. Stehenlassen an der Luft | | | | |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 1. Tag nach Infektion | + sk | + sk | + sk | + sk | + sk | + sk | + sk | + sk | + sk | + sk |
| Spirillenmenge | $\frac{1}{400}$ | $\frac{1}{400}$ | $\frac{1}{500}$ | $\frac{1}{500}$ | $\frac{1}{600}$ | $\frac{1}{400}$ | $\frac{1}{400}$ | $\frac{1}{500}$ | $\frac{1}{500}$ | $\frac{1}{600}$ |
| 2. Tag n. Infekt. (Spirillen) | — | — | + sk | + | + | — | — | — | — | — |
| 3. Tag n. Infekt. (Spirillen) | — | tot | + | + | + | — | — | — | — | — |
| 4. Tag n. Infekt. (Spirillen) | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 5. Tag n. Infekt. (Spirillen) | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 6. Tag n. Infekt. (Spirillen) | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Rückfall am Tage | 14 | | 8 | 8 | 7 | | | | 11 | 7 |
| Bemerkungen | | | | | | Heilung | | | | |

nach zweistündigem Stehenlassen an der Luft und in verdünnterem Zustande eingespritzt (siehe Tabelle V).

Tabelle V.

Heilwirkung des Salvarsans bei experimentellem Rückfallfieber. (Auf je 20 g Mäusegewicht wurde 1 ccm der Lösung injiziert; Verdünnung wie angegeben.)

| Maus No. | Sofort eingespritzte Lös. | | | Nach 1std. Stehenlassen an der Luft | | | | Nach 2std. Stehenlassen an der Luft | | | | |
|--------------------------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 1. Tag nach Infektion Spirillenmenge | +sk $\frac{1}{300}$ | +sk $\frac{1}{400}$ | +sk $\frac{1}{500}$ | +sk $\frac{1}{400}$ | +sk $\frac{1}{500}$ | +sk $\frac{1}{600}$ | +sk $\frac{1}{700}$ | +sk $\frac{1}{500}$ | +sk $\frac{1}{600}$ | +sk $\frac{1}{700}$ | +sk $\frac{1}{800}$ | +sk $\frac{1}{1000}$ |
| 2. Tag n. Infekt. (Spirillen) | — | +sk | +sk | — | +sk | +sk | — | — | — | — | — | +sk |
| 3. Tag n. Infekt. (Spirillen) | — | +sk | +sk | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 4. Tag n. Infekt. (Spirillen) | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 5. Tag n. Infekt. (Spirillen) | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 6. Tag n. Infekt. (Spirillen) | — | — | — | — | — | — | tot | — | — | — | — | — |
| Rückfall am Tage | | 12 | 12 | 8 | 11 | 11 | | tot | tot | 7 | 7 | 7 |
| Bemerkungen | Heilg. | | | | | | | | | | | |

Die Kontrolltiere beweisen, daß auch diese Lösung, nachdem sie eine Stunde lang dem Sauerstoff der Luft ausgesetzt worden war, giftiger wurde, und die in Tabelle IV und V zusammengefaßten Untersuchungen ergeben, daß wirklich eine leichte Erhöhung der heilenden Wirkung dieses Mittels eintritt, aber diese letztere ist nicht erheblich genug, daß er den Nachteil erhöhter Giftigkeit aufwäge, die sich aus derselben Ursache ableitet. Uebrigens erklärt es sich leicht, wieso das gleiche Präparat, Neosalvarsan in der ersten und in der zweiten Darstellungsform dem Luftsauerstoff gegenüber ein so verschiedenes Verhalten zeigt. In den nach Ehrlichs erster Vorschrift bereiteten Lösungen ist das Hyraldit, welches nach Sauerstoff avid ist, zugemengt ohne mit dem Arsenprodukt chemisch verbunden zu sein; es wirkt, wie von Ehrlich angegeben: es zieht den Sauerstoff an sich und schützt so die Grundverbindung vor Oxydation. Bei der Anwendung des Neosalvarsan II bewährt das Hyraldit, welches innig an das Arsenobenzolmolekül gebunden ist, seine Avidität zu Sauerstoff und zieht ihn an die Arsenverbindungen heran, was eine stärkere und raschere Oxydation zur Folge hat. Und vielleicht fördert es nicht allein seine Oxydation, sondern ist die Ur-

sache weit komplizierterer Umwandlungen, sofern es die Grundverbindung so tiefgehend modifiziert, daß ihre physikalischen und toxikologischen Eigenschaften vollständig verändert werden. Röhrchen mit Monosulphoxylatverbindungen bekommen, selbst wenn sie evakuiert oder mit einem indifferentem Gas erfüllt sind, nach und nach eine Orange-, dann rötliche Färbung und erreichen endlich, nachdem sie die ganze Stufenleiter passiert haben, eine ziegelrote Farbe; zu gleicher Zeit vermindert sich oder verschwindet die Wasserlöslichkeit; dies geschieht hauptsächlich und mit besonderer Schnelligkeit bei Verbindungen, deren Lösungen etwas alkalische Reaktion besitzen. Es kommt sehr wahrscheinlich zur Bildung jener an Arsen geschwefelten Verbindungen, welche schon Berthelm in seinen grundlegenden Arbeiten erwähnte. Doch schon bevor es zu Umwandlungen der chemischen Struktur kommt, die so tiefgehend sind, daß sie für oberflächliche Prüfung durch eine Alteration der physikalischen Eigenschaften, besonders der Farbe, erkennbar werden, kommt es zu Veränderungen, die sich jeder Prüfung entziehen und die von erheblicher Giftigkeitszunahme begleitet sind. Sie lassen sich nur durch Tierversuche klarstellen.

Es ist klar, daß diese übermäßige Oxydierbarkeit des Mittels ein schweres Hindernis für seine klinische Anwendung bildet. Daher gingen die Fabriken ans Werk, diesem Uebelstand durch eine Reihe von technischen Verbesserungen abzuhelpen. Man beobachtete, daß durch Verarbeitung in einem Alkoholmilieu mehr gelb gefärbte, reinere und weniger giftige Produkte entstehen (D.R.P. 260 235). Später bemerkte man, daß das Hinzufügen von mehrwertigen Alkoholen (Mannit, Dulcit, Erythrit, Arabit) zu Verbindungen von orangengelber Farbe führt, welche beständiger sind als das reine Arsenobenzol (D.R.P. 292 149). Endlich fand man, daß wirkliche Modifikationen, wenn sie mit dem Grundmolekül vorgenommen werden, ein viel beständigeres und weniger oxydierbares Präparat ergeben. Mittels Einführung einer weiteren Gruppe in die Moleküle (einer Einführung, die weder die therapeutische Kraft noch die toxikologische Wirksamkeit der Verbindung verändert) gelingt es, wie im Neo I. G. I. welches in Florenz zubereitet wird, ein Produkt herzustellen, das eine ganze

Nacht lang an der Luft stehen kann, ohne physikalische oder toxikologische Alterationen aufzuweisen. Aus den bisher geschilderten Versuchen und den oben dargelegten Erwägungen können wir klinische Folgerungen ziehen, die von Interesse sind. Natürlich wird dem Kranken, der sich in unsere Behandlung begibt, nicht die toxische Dosis des Mittels injiziert und infolgedessen gefährdet eine mäßige Alteration des Präparates nicht ohne weiteres das Leben des Kranken, wie es bei den Tierversuchen der Fall ist; aber unterhalb der letalen Dosis befindet sich eine mehr oder weniger ausgedehnte Zone schädlicher Dosen. Der Arzt muß die Ausführung seines Eingriffes nach den Anweisungen der experimentellen Therapie richten; er muß darauf achten, daß bei der klinischen Anwendung ein Mittel unter diejenigen Bedingungen eingespritzt wird, die sich auf Grund der experimentellen Analyse als die zweckmäßigsten erwiesen haben: die einem Menschen injizierte Menge wird somit möglichst weit von der tödlichen und schädlichen Dosis entfernt sein müssen. Bei der Einspritzung von Neosalvarsan, welches unter Hinzufügung von Hyraldit zu einer Lösung von 606 (nach Ehrlich) bereitet war, müßte der Arzt darauf achten, nicht zu viel Hyraldit hinzuzusetzen und nicht über die geeignete Temperatur hinauszugehen, damit sich nicht anstatt einer einzigen, zwei sulphoxyliche Gruppen an das Salvarsanmolekül binden. Wenn aber der Arzt Neosalvarsan II anwendet, welches (wie in den wiedergegebenen Protokollen beschrieben ist) einer sehr schnellen Oxydation anheimfällt, muß er darauf bedacht sein, bei der Einspritzung so schnell wie möglich vorzugehen. Es wäre z. B. unzulässig (wie schon in der Zeitschr. f. Chemotherapie, Orig., Bd. 1, 1912 angedeutet wurde), daß man, um mehrere Kranke zu injizieren (z. B. im Krankenhaus), ein und dieselbe Lösung verwendet, da auf diese Weise der letzte Patient mit einer viel giftigeren Lösung injiziert wird als der erste. Dieses braucht man nicht zu befürchten, wenn das Neosalvarsan nach der neuesten Methode hergestellt wird, wie das Neo I. C. I.: Bei diesem wiederum zeigen die experimentellen Versuche, daß eine übertriebene Schnelligkeit der Einspritzung eher schädlich wirkt; eine Reihe von Mäusen, die mit Neo I. C. I. gleich nach Herstellung der Lösung injiziert wurden, haben Mengen nicht

vertragen, die von anderen Mäusen toleriert wurden, welche dieselben Lösungen eine Viertelstunde nach ihrer Zubereitung erhalten hatten. Die Erklärung dieses Widerspruches wird uns insofern durch eine chemische Tatsache gegeben, als die Natriumsalze des Neosalvarsans weniger löslich sind als die Kaliumsalze; die Natriumsalze, wenn sie auch vollkommene Lösungen zu sein scheinen, stellen sich doch als kolloidale Lösungen dar, deren Einführung in dem Organismus leicht Störungen hervorruft. Heutzutage kommen nur Kaliumsalze in den Handel, so daß die Auflösung rasch und vollständig vor sich geht. Kurz, man halte sich gegenwärtig, daß es heutzutage weder nötig noch nützlich ist, sich bei der Einspritzung so viel als möglich zu beeilen, und diese Tatsache ist, meiner Ansicht nach, nicht ohne Interesse für die Entwicklung der Chcmotherapie der Spirillenerkrankungen.

Zusammenfassung.

Bei der Untersuchung über die Ursache der Giftwirkung von Arsenobenzolen muß man außer den Ursachen, welche sich auf den Organismus und auf die Krankheit beziehen, auch diejenigen berücksichtigen, welche von dem injizierten Präparat selbst herrühren. Unter dem Namen „Salvarsan“ resp. „Neosalvarsan“ wird ein kompliziertes Präparat verabreicht. Wenn die geringsten Spuren von Unreinigkeiten vorhanden sind, wenn gewisse Verbindungen innig gemengt, und wenn ungeeignete Schutzgruppen vorhanden sind, dann können Störungen mannigfacher Art eintreten.

Oft genug hat man den Arsenobenzolen den Prozeß gemacht, und vorwiegend vom klinischen Standpunkt über sie debattiert. Es wird eine Wiederaufnahme der Diskussion empfohlen auf Grund von umfassenden und sicheren Kenntnissen der bis dahin eingetretenen Modifikationen. Folgerungen von praktischem Wert könnten sich ergeben, wie z. B. diejenigen, welche sich aus den experimentellen Forschungen über die Oxydierbarkeit des Neosalvarsans ableiten lassen.

Nachdruck verboten.

[Aus der staatlichen Tierimpfstoffgewinnungsanstalt in Mödling (Direktor: Privatdozent Dr. Fr. Gerlach) und aus der Lehrkanzel für bakteriologische Hygiene der Tierärztlichen Hochschule in Wien (Vorstand: Prof. Dr. J. Schnürer).]

Ueber das Verhalten apathogener Bakterien im Tierkörper unter der Einwirkung von Milch (Ameisen-)säure.

Von Tierarzt Dr. Josef Fuchs.

(Eingegangen bei der Redaktion am 7. Juli 1922.)

Durch die Veröffentlichungen Muchs in der Deutschen medizinischen Wochenschrift (1921, No. 22) über „Künstliche Virulenz und Chemie“ angeregt, sind die nachstehend beschriebenen Untersuchungen¹⁾ vorgenommen worden, um festzustellen, ob und unter welchen Bedingungen apathogene Keime durch gleichzeitige Injektion von Milch- bzw. Ameisensäure für Versuchstiere pathogen gemacht werden können.

Verwendet wurden Stämme von *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Bac. mycoides* und *Proteus vulgaris* aus dem Kral-schen Museum, Wien, und die allgemein im Handel erhältliche, offizinelle, chemisch reine Milchsäure „*Acidum lacticum*“, spez. Gewicht 1,210, rechtsdrehend, 75-proz. Gehalt an Milchsäure, und die offizinelle Ameisensäure „*Acidum formicum*“, spez. Gewicht 1,227 mit 25-proz. Gehalt an Ameisensäure (beide untersucht durch die Lehrkanzel für medizin. Chemie der Tierärztlichen Hochschule). Als Versuchstiere benutzte ich sowohl weiße als auch graue Mäuse, und zwar im Gewicht von 15—17 g.

In der Literatur finden sich vereinzelt Angaben über ähnliche Versuche, so über Virulenzsteigerung abgeschwächter Rauschbrandstämmen durch gleichzeitige Milchsäureinjektion bei Versuchstieren (E. Hibler-Innsbruck, „Untersuchungen über die apathogenen Anaërobier“, S. 247), dann von Lafforgue, dem es gelungen sein soll, den *Bac. mesentericus* für Meerschweinchen pathogen zu machen, wenn er gleichzeitig 10-proz.

1) Die Veröffentlichung der zahlreichen Versuchsprotokolle und Tabellen mußte unterbleiben.

NaCl-Lösung getrennt, aber beides subkutan injizierte (Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 59, S. 585). Andererseits will Paul Rostock (Deutsche med. Wochenschr., 1921, No. 44) eine „künstliche Virulenzsteigerung bei Mäuse-impftumoren durch Milchsäure“ gefunden haben.

Da Much genaue Angaben über die Dosierung der Bazillen und Säure nicht gibt, hielt ich mich möglichst an die von ihm gemachten Andeutungen.

Ich untersuchte vorerst die Wirkung einer Mycoidesbouillon, hergestellt durch Aufschwemmung einer Oese *Bac. mycoides* in 10 ccm Fleischbouillon ($\frac{1}{2}$ kg Pferdefleisch, 1 Liter H_2O , 5 g NaCl mit Natrium bicarbon. neutralisiert), durch 6 Stunden bei $37^{\circ}C$ bebrütet. Von der durch Wachstum stark und gleichmäßig getrübbten Bouillon wurde eine Menge von 0,5 ccm, von der Milchsäure 0,2 ccm einer 1-proz. Lösung, beides getrennt, aber gleichzeitig injiziert (Versuch I).

Die Sektion der innerhalb 16 Stunden verendeten Mäuse I und III—VI (Injektion von Mycoidesbouillon) ergab sehr zahlreiche Mycoidesstäbchen in Ausstrichen aus Milz, Nieren und Herzblut (Gramfärbung). Kultur auf Agar: üppiges Wachstum von *Bac. mycoides*. Der Ausstrich von Maus II (mit Milchsäure geimpft) war steril. Da in diesem Versuche auch die beiden Kontrolltiere, von denen das eine mit Mycoidesbouillon, das andere mit Milchsäure allein geimpft worden war, umgestanden sind, konnte ich aus den Verenden der Mäuse III—VI keinen Schluß ziehen. Ich versuchte daher zunächst jene Mengen von Kultur und Säure zu finden, die für sich allein ohne Schädigung vertragen werden.

Bei der Auswertung der Bouillonaufschwemmung konnte ich vor allem ermitteln, daß diese, wenn sie (im Gegensatz zum ersten Versuch) unmittelbar nach der Aufschwemmung unbebrütet in derselben Dosis wie im Versuch I (0,5 ccm) verimpft wird, subkutan wie intraperitoneal vollkommen ohne Schaden vertragen wird, ferner daß ein Virulenzunterschied durch das Alter der Ausgangskulturen nicht gegeben ist (Versuch II).

Das Ergebnis dieser beiden ersten Versuche ist dahin zusammenzufassen, daß obwohl von dem von mir benützten Stamm von *Bac. mycoides* $\frac{1}{20}$ Oese für Mäuse unschädlich ist, ein Mehrfaches dieser Dosis doch tödlich wirkt.

Die Grenzen zu bestimmen, innerhalb welcher Milchsäure ohne Nachteil vertragen wird, war sehr schwer, da sich in dieser Hinsicht große individuelle Unterschiede ergeben haben.

Niedrige Konzentrationen (unter 0,1 Proz.) werden von allen Tieren in einer Menge von 1 ccm intraperitoneal gut vertragen. Die Injektion höherer Konzentrationen zeigte sehr schwankende Ergebnisse. Die ersten mit 0,2 ccm 1-proz. Milchsäure geimpften Tiere zeigten wohl schwere Krankheitserscheinungen sofort nach der Injektion (regungsloses Daliegen oder schmerzvolles Winden, gesträubtes Haarkleid, schwere Dyspnoë), erholten sich aber nach einigen Stunden (Versuch III: Auswertung der Milchsäure), während bei später mit einer größeren Anzahl von Tieren angestellten Wiederholungsversuchen diese schweren Symptome oft zum Tode führten. Dies war besonders dann der Fall, wenn ich die fünffache Menge, d. i. 1 ccm 1-proz. Milchsäure injizierte, was in der besonderen Absicht geschah, mich an eine der wenigen Zahlen Muchs zu halten (Versuch XVI).

Die in den beiden Konzentrationen von 1 Proz. und 0,1 Proz. in der Menge von 0,2 ccm intraperitoneal gegebene Ameisensäure schädigte in weit geringerem Maße: Es blieben alle Tiere am Leben (Versuch IV).

Nachdem ich zur Erkenntnis gekommen bin, daß 0,5 ccm einer frisch bereiteten Aufschwemmung von *Bac. mycoides*, eine Oese in 10 ccm Fleischbouillon, d. i. also $\frac{1}{20}$ Oese, intraperitoneal wie subkutan von den Mäusen schadlos ertragen wird, daß ferner 0,2 ccm 1-proz. Milchsäure zwar schädigt, aber nicht unbedingt tötet, stellte ich mit diesen Dosen den Hauptversuch an (Versuch V). Außer den beiden Kontrollen impfte ich wieder wie bei Versuch I 4 Mäuse: bei zweien beide Flüssigkeiten subkutan bzw. intraperitoneal, bei zwei anderen Milchsäure intraperitoneal, Bouillon subkutan bzw. umgekehrt. Auch im Versuch V, Hauptversuch A (Impfung mit 0,5 ccm *Mycoidesbouillon* und 0,2 ccm 1-proz. Milchsäure) und im Versuch VI Hauptversuch B (Impfung mit 0,5 ccm *Mycoidesbouillon* und 0,2 ccm 1-proz. Ameisensäure) war das Ergebnis ein negatives. Selbst bei den durch Milchsäure geschädigten Mäusen vermochte die Infektion mit *Bac. mycoides* nicht zu haften. Die Tiere wurden 14 Tage beobachtet und blieben am Leben. Dasselbe Resultat hatte der Versuch mit *Bac. mycoides* und Ameisensäure.

Much berichtet ferner darüber, daß in Milchsäurebouillon gezüchtete Heubazillen eine hohe Pathogenität erlangen. Die Säurezusätze zur Bouillon erfolgten von 1 Proz.—0,001 Proz. Meine Versuche in dieser Richtung führte ich sowohl mit *Bac. subtilis* als auch mit *Bac. mesentericus* aus. In erster Linie injizierte ich analog den vorausgegangenen Versuchen Kultur und Milchsäure gemischt, um dann anschließend die Virulenz von in Milchsäure gezüchteten Bazillen zu prüfen.

Der Mangel an Versuchsmäusen zwang mich, die Impfungen mit den verschiedenen Konzentrationen tageweise durchzuführen, was wieder die jedesmalige Kontrollimpfung zur Ermittlung der Stärke der neubereiteten Bazillenaufschwemmung notwendig machte. Gleichzeitig wurde jedesmal mit Milchsäure allein eine Maus geimpft. Mit einer einzigen Ausnahme blieben sämtliche Tiere gesund und am Leben. Bei einer Versuchsreihe starben nämlich die Hauptmaus und eine Kontrollmaus. Die Sektion ergab aber hämorrhagische Septikämie, vermutlich durch infizierten Käfig verursacht. Dieser Versuch wurde wiederholt und blieb ebenso wie die anderen negativ (Versuch VII und VIII).

Die *Subtilis*- bzw. *Mesentericus*-Aufschwemmungen wurden durch Verteilung einer Oese des Kulturmateri als in 10 ccm Fleischbouillon hergestellt. Die jedesmalige Kontrollimpfung zur Ermittlung der Stärke der frisch infizierten Bouillon erwies sich notwendig, da es nur schwer gelingen dürfte, selbst mit gleicher Oese jedesmal die gleiche Menge Material zu übertragen. Wie sehr einer genauen Bemessung der Kulturmenge Rechnung zu tragen ist, erhellt sofort aus den weiteren Versuchen X—XII und XIIa, bei denen sich zeigte, daß die während einer kurzen Bebrütung erfolgte Vermehrung der Bazillen schon genügte, um mit derselben Menge (0,5 ccm) Mäuse zu töten.

Nachdem die derartig angestellten Versuche bewiesen hatten, daß die gleichzeitige Injektion einer an sich unschädlichen Menge von *Bac. subtilis*, resp. *Bac. mesentericus* und einer 0,001-proz.—0,1-proz. Milchsäurelösung Mäuse nicht einmal krank machte, also noch viel weniger tötete, prüfte ich, ob es möglich wäre, durch Züchtung von *Bac. subtilis* in verschiedenprozentiger Milchsäurebouillon diesen eine

Pathogenität für Mäuse zu verleihen. Zu diesem Zwecke ging ich schon von vornherein mit der Menge der Bakterien im Ausgangsmaterial herunter (auf $\frac{1}{400}$ Oese!), um der bei der Züchtung erfolgenden Vermehrung Rechnung zu tragen.

Zu 5 Eprouvetten mit je 10 ccm Fleischbouillon und 0,2 ccm einer Aufschwemmung einer Oese Kultur in 10 ccm Bouillon wurden zugesetzt je 2 ccm 1-proz., 0,1-proz., 0,01-proz., und 0,001-proz. Milchsäure; eine Eprouvette blieb als Kontrolle angesäuert. Die Reaktionsprüfung mit Lackmuspapier zeigte in den beiden Konzentrationen 0,01 Proz. und 0,001 Proz. keine saure Reaktion mehr an, wohl aber bei 0,1 Proz. und 1 Proz. Die so beschickten Röhrchen wurden 12 Stunden lang bei 37° C bebrütet (Versuch IX). Das Wachstum war in den Röhrchen mit Zusatz von 0,001-proz. und 0,01-proz. Milchsäure und ohne Zusatz gleich stark, bei Zusatz von 0,1-proz. schwächer, während bei 1-proz. Zusatz vollständige Klärung der Bouillon und Zusammenballung der Bazillen infolge Säureagglutination auftrat. Die gleichen Verhältnisse ergab die Züchtung von *Bac. mesentericus* in Milchsäurebouillon (Versuch IXa).

Mit den auf diese Weise in Milchsäure gezüchteten Bazillen wurden nun in der üblichen Dosis von 0,5 ccm Mäuse intraperitoneal geimpft. Sämtliche Mäuse, auch das Kontrolltier verendeten innerhalb 12 Stunden infolge der außerordentlich starken Vermehrung der Bazillen (Versuch X).

Das Sektionsergebnis von Maus I—V (also auch der Kontrollmaus V) zeigte in mikroskopischen Ausstrichen (Gramfärbung) starke Ueberschwemmung aller Organe (Milz, Nieren, Herz) mit *Subtilis*bazillen sowie äußerst üppiges Wachstum beim Kulturversuch auf der Agarplatte. In Anbetracht dieses Resultates wurde dieser Impfversuch mit *Bac. mesentericus* nicht ausgeführt, sondern vorerst für den *Bac. subtilis*-Versuch die Züchtungszeit bei sonst gleichbleibenden Verhältnissen auf 4 Stunden verringert (Versuch XI und XIa).

Trotzdem die Vermehrung der Bazillen, makroskopisch beurteilt, eine weniger starke als bei 12-stündiger Bebrütung war, starben wieder alle Tiere, eines etwas verzögert. Nach der Impfung mit *Bac. subtilis* (4 Stunden in Milchsäure gezüchtet) und mit *Bac. mesentericus* (4 Stunden in Milchsäure gezüchtet) (Versuch XII und XIIa) wurde in allen 10 Fällen stärkste Vermehrung der Bazillen in allen Organen der Versuchsmäuse ermittelt. Aus diesen Ergebnissen konnte ich also nicht entnehmen, daß das Wachstum in einer mit Milch-

säure versetzten Bouillon den darin gezüchteten Bazillen eine vorher nicht innegehabte Virulenz verleiht, sondern nur, daß das Verenden der Mäuse, wie ja die Kontrollen beweisen, lediglich auf die durch die (wenn auch kurze) Züchtungszeit bedingte, außerordentliche Vermehrung der Bazillen zurückzuführen ist.

Bei diesem Stande meiner Versuche mit dem Heubazillus wurde in der Zeitschrift für Immunitätsforschung, Originale, Bd. 34, Heft 1—2 von Timm ein Artikel über Milchsäureaktivierung veröffentlicht. Es beschränkte sich dieses Referat allerdings nur auf eine ganz bestimmte, aus der übrigen Gruppe herausgegriffene Anzahl von Experimenten (Heubazillus!), was ich aber dennoch zum Anlaß nahm, mich mit diesen nunmehr genaue Angaben enthaltenden Mitteilungen näher zu befassen.

Mich genau an die ausgewiesenen Zahlen haltend, beimpfte ich 5 Eprouvetten, die je 4,5 ccm Fleischbouillon enthielten, mit $\frac{1}{10}$ Oese Subtilis-Agarkultur, säuerte die Röhrchen I—IV mit je 0,5 ccm 10-proz., 1-proz., 0,1-proz. und 0,01-proz. Milchsäure-Subtilisbouillonlösung erhielt. Röhrchen V blieb als Kontrolle ungesäuert. Hierauf wurde 24 Stunden bei 37° C bebrütet (Versuch XIII). Röhrchen I und II zeigten Säureagglutination, die anderen von III—V zunehmende Trübung. Nun wurden 5 Mäuse mit je 0,4 ccm aus diesen bebrüteten Eprouvetten intraperitoneal geimpft und beobachtet (Versuch XIV). Maus I und II zeigten sofort nach der Injektion die bekannten Symptome der Milchsäureschädigung. Nach 12 Stunden war bereits Maus I verendet, während sich Maus II erholte und ebenso wie die Mäuse III und IV, die gar keine Reaktion aufwiesen, am Leben blieb. Maus V, das Kontrolltier ging binnen 24 Stunden ein. Die Sektion ergab seröse Peritonitis und zahlreiche Subtilisstäbchen in allen Organen.

Ohne das Resultat dieses Versuches abzuwarten, führte ich gleichzeitig einen weiteren aus, dem eigentlich eine Berechtigung nur dann zugekommen wäre, wenn der erste Versuch positiv ausgefallen wäre, d. h. wenn sich eine Pathogenität von in Milchsäure bebrüteten Heubazillen als angezüchtete Eigenschaft ergeben hätte.

Ich zentrifugierte den Inhalt eines Röhrchens III b (4,5 ccm Bouillon + $\frac{1}{10}$ Oese Subtilis + 0,5 ccm 0,1-proz. Milchsäure, 24 Stunden bei 37° C bebrütet) ungefähr eine halbe Stunde lang, heberte die Bouillon ab, die sich durch Zählplattenversuch als sehr arm an Subtilisstäbchen erwies und impfte mit je 0,4 ccm abgeheberter Bouillon 2 Mäuse intraperitoneal (Versuch XIV). Ferner wusch ich die Heubazillen noch 2mal, schwemmte sie dann in 4,5 ccm NaCl-Lösung auf und impfte auch davon wieder 2 Mäuse mit je 0,4 ccm intraperitoneal.

Dieser Vorgang hätte den Zweck gehabt, zu unterscheiden, ob im Falle einer pathogenen Wirkung diese wirklich dem Bac. subtilis zukommt oder seinen in der Bouillon gelösten Stoffwechselprodukten. Da der erste Versuch negativ ausgefallen ist, konnte dieser zweite höchstens nur der Erhärtung des ersteren dienen. Der Impfung erlegen sind nur die Mäuse I und V, Maus I wegen der starken Konzentration der Milchsäure, Maus V, das Kontrolltier, an der übergroßen Zahl der Subtilisstäbchen, die sich im Röhrchen V (ohne Milchsäurezusatz) viel ungehemmter entwickelten als in den gesäuerten Bouillonkulturen.

Auf Grund dieser Ergebnisse muß ich die Frage Timms, „ob alle Subtilisstämme immer durch Milchsäure zu aktivieren sind“, dahin beantworten, daß dies bei dem mir zur Verfügung gestandenen Stamm nicht der Fall war.

Ebenso wie den bereits besprochenen Bakterien sollen auch dem Bacterium vulgare (*Proteus vulgaris*) mit ihm gleichzeitig verimpfte Milchsäuredosen eine hohe Pathogenität für Mäuse verleihen. Es gelang mir dies in meinen Versuchen nicht, trotzdem ich auch diesmal wieder wie beim Bac. mycoides die schon für sich allein schwer schädigende Menge von 0,2 ccm 1-proz. Milchsäure heranzog. Die Tiere waren wieder sofort nach der Milchsäureinjektion deutlich erkennbar krank, aber sie blieben doch am Leben, insofern sie exakt, ohne jede anderweitige Verletzung geimpft worden waren. Versuch XV zeigte, daß Bakterium und Säure in keiner der üblichen Kombinationen in die erwarteten Beziehungen zueinander getreten sind, außer vielleicht die, daß die dem Tiere injizierte Säure nicht nur dessen Körper angreift, sondern auch die einverleibten Bakterien schädigt, wie dies ja auch in vitro der Fall ist. Ich ging vorerst an die Auswertung der Proteusbouillon, die ich in der bisher geübten Weise

(1 Oese auf 10 ccm Bouillon) herstellte. Dabei impfte ich 2 Mäuse mit je 0,5 ccm frisch infizierter Proteusbouillon intraperitoneal. Sie blieben gesund und wurden 16 Tage beobachtet. Hierauf machte ich den Hauptversuch. Die Mäuse II und IV—VI (mit Proteus-Bouillon und Milchsäure geimpft) blieben nach anfänglicher Erkrankung am Leben, Maus I (Proteuskontrolle) blieb überhaupt gesund, Maus III erlag innerhalb 12 Stunden einer bei der Impfung zugezogenen Verletzung; die bei Maus III eingehaltene Versuchsanordnung wurde wiederholt, worauf die Maus III am Leben geblieben ist.

Die von Much mitgeteilten Ergebnisse sollten ferner einen „bedeutenden Unterschied zwischen neutralisierter und nicht neutralisierter Milchsäure“ darlegen. Während nämlich eine Maus, die 5 Stunden vor der Proteusinjektion mit 1 ccm 1-proz. Milchsäure gespritzt wurde, am Leben blieb, war eine zweite, die 5 Stunden vorher 1 ccm 1-proz. neutralisierte Milchsäure erhalten hatte, dieser zeitlich getrennten Injektion zum Opfer gefallen. Als Grund wurde vermutet, daß im Moment der Nachimpfung mit Proteus die Milchsäure bei der ersten Maus bereits zum größten Teil ausgeschieden war während bei der zweiten Maus in diesen 5 Stunden erst die Spaltung der neutralisierten Milchsäure erfolgt war und diese freigewordene Milchsäure auf die nun einverleibten Proteusbakterien eine aktivierende Wirkung ausübte.

Von vornherein auffallend war dabei die angewandte große Säuremenge starker Konzentration, nämlich 1 ccm 1-proz. Milchsäure. Einen bedeutenden Unterschied konnte ich zwar auch finden, aber in ganz anderer Richtung, da nämlich 1 ccm 1-proz. Milchsäure die mit Kalilauge unter Zuhilfenahme von Phenolphthalein neutralisiert worden war, keine Erkrankung hervorrief, während 1 ccm 1-proz. Milchsäure jede Maus unbedingt in wenigen Stunden tötete. Da dies bei 3 Tieren der Fall war, mußte ich den Versuch in dieser Anordnung abbrechen. Hatte ich aber jene Grenzen erreicht, innerhalb derer die einzelnen Agentien unschädlich waren, dann blieb es auch gleichgültig, ob die Milchsäure neutralisiert war oder nicht, ob gleichzeitig oder 5 Stunden später injiziert wurde.

Den Versuch XVI, die zeitlich getrennte Impfung mit *Proteus* und Milchsäure resp. mit neutralisierter Milchsäure mußte ich abbrechen, da die mit Milchsäure gespritzten Tiere innerhalb 4 Stunden, also noch vor der 2. Injektion, unter schweren Krankheitserscheinungen umgestanden sind, während die Mäuse IV und V, die 1-proz. neutralisierte Milchsäure erhielten, vollkommen gesund geblieben waren. Das Verenden einer von 2 Mäusen, an denen nun 1 ccm 0,5-proz. Milchsäure ausgeprobt wurde, ließ mich erkennen, daß die intraperitoneale Maximaldosis der Milchsäure für Mäuse bei 1 ccm der 0,1-proz. Konzentration liegt. Der zweite Versuch, der nun mit dieser Dosis ausgeführt wurde, zeigte, daß eine an sich unschädliche Dosis von Milchsäure gleichzeitig oder 5 Stunden später vorher mit *Proteus*-bouillon gespritzte Mäuse nicht tötet, daß ferner dem Umstande, ob die Milchsäure neutralisiert worden ist oder nicht, keine Bedeutung zukommt (Versuch XVII).

Das Ergebnis meiner Versuche wäre dahin zusammenzufassen, daß die Erzeugung einer künstlichen Virulenz bei apathogenen Keimen in keinem Falle gelungen ist, da Mäuse nur dann erlegen sind, wenn sie einer Säurevergiftung oder einer übermäßigen Invasion von Bakterien ausgesetzt wurden. Dieser letztere Umstand, nämlich die oft beobachtete Tatsache, daß die intraperitoneale Injektion kleiner Mengen von harmlosen Saprophyten Mäuse nicht schädigt, während die sehr großen Mengen dieser apathogenen Bakterien Mäuse doch tötet, ließ die Frage entstehen, ob diese tödliche Wirkung der Bakterien die Folge der intraperitonealen Einverleibung von körperfremdem Eiweiß ist, oder ob sie an das Leben der Mikroben gebunden ist. Um dies zu klären, stellte ich vorerst für *Proteus vulgaris* als Nichtsporenbildner die intraperitoneale Dosis letalis minima fest (Versuch XVIII), um dann die Wirkung einer absolut tödlichen Menge von abgetöteten *Proteus*-keimen auszuprobieren (Versuch XIX).

Ich ging von einer sicher unschädlichen Menge — eine Oese von *Proteus vulgaris* — aus und beimpfte damit 9 Röhrchen à 10 ccm Bouillon, die ich alle zur gleichen Zeit in den Brutofen stellte. In Intervallen von $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$,

$\frac{3}{4}$, 1, $1\frac{1}{2}$, 2, 3, 4 und 5 Std. wurde die Bebrütung je eines Röhrchens unterbrochen und aus dem gut durchgeschüttelten Inhalt je 0,5 ccm auf Mäuse überimpft.

Das Ergebnis war ein klares, da die niedrigste tödliche Menge bei einer $1\frac{1}{2}$ -ständigen Bebrütungszeit fixiert werden konnte.

Um nun die Hauptfrage zu beantworten, erhitzte ich Eprouvetten, die mit demselben Ausgangsmaterial beschickt worden waren (10 ccm Bouillon + 1 Oese Proteus) und die hierauf 2 und 4 Stunden im Brutofen standen $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 60° C. Die Proteuskeime, die sich in der 2- und 4stündigen Bebrütungszeit zu einer Menge entwickelten, von der 0,5 ccm eine Maus sicher tötet, wurden dadurch abgetötet. Mit dieser Bouillon impfte ich wieder Mäuse mit je 0,5 ccm. Selbstverständlich wurden alle nötigen Kontrollimpfungen angestellt. So mit 0,5 ccm der $\frac{3}{4}$ Stunden bebrüteten Bouillon, mit 0,5 ccm der 2 und 4 Stunden bebrüteten und nicht abgetöteten Bouillonkulturen.

Der Ausfall dieses Versuches hat gezeigt, daß das Bakterieneiweiß nicht die schädigende Wirkung hervorruft, die großen Mengen der lebenden Bakterien zukommt, da die mit abgetöteten Proteusbakterien geimpften Mäuse am Leben geblieben sind.

Als Erklärung der gegensätzlichen Befunde Muchs glaubte ich anführen zu können, daß Much

1) mit einem Stamme von Bac. mycoides gearbeitet hat, von dem „viele Oesen die Tiere weder töteten noch krank machten“, während von dem von mir verwendeten Stamm 0,5 ccm einer 6-stündigen Bouillonkultur (1 Oese auf 10 ccm Bouillon) intraperitoneal gegeben, Mäuse tötete;

2) eine chemische Analyse der verwendeten Milch- und Ameisensäure nicht gegeben hat (Handelsware weist möglicherweise verschiedene Konzentrationen und Beimengungen auf);

3) in seiner Veröffentlichung nur lückenhafte Angaben machte (über Dosis, Oesengröße, Sektionsbefunde), so daß die Nachprüfung möglicherweise nicht in der gleichen Weise erfolgte.

9*

Zusammenfassung.

Die Ergebnisse meiner Versuche möchte ich in folgender Weise zusammenfassen:

1) Die Impfung von Mäusen mit an sich unschädlichen Dosen von *Bac. mycoides* bei Zusatz verschiedener Konzentrationen von Milchsäure zeitigte in keinem Falle eine „künstliche Virulenz“.

2) Denselben negativen Ausfall lieferten die Impfversuche mit *Bac. subtilis* resp. *Bac. mesentericus* bei gleichzeitiger Injektion verschiedener Milchsäurekonzentrationen.

3) Weder bei Versuchen mit dem von mir eingeschlagenen Vorgange, noch bei genauester Nachahmung der Timmschen Experimente ist es gelungen, dem Heubazillus durch Züchtung in verschiedenprozentigen Milchsäurebouillonlösungen eine vorher nicht innegehabte Pathogenität zu verleihen.

4) *Bact. Proteus vulgaris* in geringer Dosis schädigte Mäuse weder wenn gleichzeitig Milchsäure gegeben wurde, noch wenn die Tiere 5 Stunden vorher mit neutralisierter oder nicht neutralisierter Milchsäure gespritzt worden waren.

5) Die verwendeten saprophytischen Luftkeime sind nicht absolut harmlos, denn auch sie töten Mäuse, wenn sie in entsprechend großen Dosen injiziert werden.

6) Die schädigende Eigenschaft ist an das lebende Bakterium gebunden.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Hygiene der K. ung. Elisabeth-Universität
in Budapest (Direktor: Prof. B. v. Fenyvessy).]

Ueber die „Formolgelatinierung“ der Sera und ihre diagnostische Verwertbarkeit.

Von **L. Reiner** und **A. Marton**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. Juli 1922.)

I. Durch Referate (1) konnten wir vor einigen Monaten von einer sehr interessanten Beobachtung von Gaté und Papacostas Kenntnis nehmen. Laut Mitteilungen dieser Autoren sollen luetische Sera durch Formaldehyd gelatinisiert werden.

Die Reaktion wird so ausgeführt, daß man zu 1 ccm des unverdünnten aktiven oder inaktiven Serums 2—4 Tropfen 40-proz. Formaldehyd hinzufügt, rasch durchschüttelt und 24—48 Stunden lang beobachtet. In dieser Zeit erstarren Wassermann-positive Sera vollständig, Wassermann-negative aber bleiben flüssig. „Die Uebereinstimmung mit der Wassermann-Reaktion ist vollkommen“, heißt es im Referate.

Das Interesse, das eine solche Reaktion erwecken mußte, verdankt sie in erster Reihe ihrer praktischen Bedeutung. Wenn sich die Angaben von Gaté und Papacostas bewähren, dann besitzen wir einen äußerst einfach und bequem ausführbaren Ersatz für die Wassermannsche Reaktion. Man wird aber in diesem Falle auch die Möglichkeit freudig begrüßen, an der Hand einer chemischen Reaktion die Untersuchung des luetischen Reaktionskörpers im Serum unternehmen zu können.

Man kann bezüglich des Mechanismus dieser Reaktion von vornherein mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß sie auf der Schiffschen Reaktion beruht, d. h. daß der Angriffspunkt des Formaldehyds die Amino-gruppe komplizierter organischer Verbindungen ist. Vom kolloidchemischen Standpunkte wird man die Reaktion als einen Gerbungsvorgang auffassen, analog dem, der bei Gelatinelösungen beobachtet wurde und von dem einen von uns eingehend studiert wurde. Bei der Gelatinegerbung wird ein Teil der Gelatineteilchen verändert und in einen zur Struktur-bildung geeigneteren Zustand gebracht. Der nicht gegerbte Teil der Gelatine ist in den Zellen der strukturierten, gegerbten Gelatine eingeschlossen.

Die Strukturbildung ist nur oberhalb einer gewissen Konzentrationsgrenze der Gelatine möglich. Ob die in dieser Partialgerbung teilnehmenden Teilchen in der ungegerbten Gelatine irgendwie präformiert sind, konnte bisher nicht entschieden werden. Der eine von uns [Reiner (2)] vertritt die Anschauung, daß die Gerbung durch Gerbungskeime eingeleitet wird und analog dem Kristallisationsprozesse an der Oberfläche der schon gegerbten Teile weiter stattfindet. Nach Möller (3) sind bloß die hochmolekularen, nicht abgebauten, also grobdispersen Eiweißteilchen der Gelatine gerbbbar.

Auf Grund dieser, an einer Eiweißlösung gewonnenen Erfahrungen haben wir es für angezeigt gehalten, in dem Serum den Körper zu suchen, der bei der Gerbung die strukturbildende Eigenschaft besitzt und bei Lues oder vielleicht auch in anderen pathologischen Fällen im Serum auftritt, bzw. sich vermehrt. Daß es sich nicht um das Gesamteiweiß handelt, war schon von vornherein wahrscheinlich, da dasselbe in verschiedenen pathologischen Fällen ziemlich konstant und verhältnismäßig groß ist. Eine spezielle Stellung desluetischen Serums oder auch gewisser anderer pathologischer Sera weist auf das Auftreten einer bei dieser Reaktion spezifisch wirkender Substanz oder auf einen speziellen Zustand des Serums hin.

II. Um eine Orientierung bezüglich der Spezifität der Reaktion zu gewinnen, haben wir sie in 211 Fällen mit anderen Luesreaktionen, und zwar mit der Wassermannschen in der Originalausführung, mit der Sachs-Georgi-Reaktion und mit der dritten Modifikation der Meinicke-Reaktion verglichen. Diese Untersuchungen haben uns gezeigt, daß der Ausfall der Gelatinierungsreaktion mit dem Ausfalle der Luesreaktionen nicht übereinstimmt.

Wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich, untersuchten wir 52 Sera, die nach Wassermann, 41, die nach Sachs-Georgi, 36, die nach Meinicke positiv waren. In 34 Fällen fiel die Formogelatinierungsreaktion positiv aus. Die Ausflockungsreaktionen zeigten die bekannt gute Uebereinstimmung mit der Wassermannschen Reaktion.

Die Meinicke-Reaktion zeigte sich in etwas weniger Fällen positiv als die Wassermannsche, während nach den meisten Angaben sie mehr positive Ergebnisse liefern sollte. Dieser Umstand mag seine Erklärung darin finden, daß wir

Tabelle Ia.

| | Uebereinstimmend Wasserm. S.-Georgi Mein. Formolgel. | | | Uebereinstimmend Wa. S.-Georgi For- molgel. gegenüber Meinicke | | | | Uebereinstimmend Wa. Mein. S.-Ge- orgi gegenüber Formolgel. | | | | Uebereinstimmend Wa. Mein. Formol- gelat. gegenüber S.-Georgi | | | | |
|----------------------------------|--|--|---------|---|--------------------------|---------------------|--------------------------|--|-------------------------|-----------------------|-------------------------|--|--------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|
| | positiv | | negativ | | Wa. S.-G. Fg. positiv | Meinicke negativ | Wa. S. G. Fg. negativ | Meinicke positiv | Wa. M. S.-G. positiv | Formolgel. negativ | Wa. M. S.-G. negativ | Formolgel. positiv | Wa. Mein. Fg. positiv | S.-Georgi negativ | Wa. Mein. Fg. negativ | S.-Georgi positiv |
| Zahl der unter- suchten Fälle | 11 | | 83 | | 1 | 1 | 5 | 5 | 15 | 15 | 23 | 23 | 5 | 5 | — | — |
| Zahl der Fälle in Proz. | 6,9 | | . | | 0,6 | 0,6 | 3,2 | 3,2 | 9,5 | 9,5 | 14,5 | 14,5 | 3,2 | 3,2 | — | — |

| | Uebereinstimmend S.-Georgi Mein. Formolgel. gegen- über Wassermann | | | | Uebereinstimmend Wa. S.-Georgi gegenüber Meinicke Formolgelat. | | | | Uebereinstimmend Wa. Meinicke gegenüber Sachs- Georgi Formolgel. | | | | Uebereinstimmend Wa. Formolgelat. gegenüber Sachs- Georgi Meinicke | | | |
|----------------------------------|---|----------------|-------------------------|----------------|---|-------------------------|--------------------------|-------------------------|---|--------------------------|----------------------|--------------------------|---|-------------------------|--------------------|-------------------------|
| | S.-G. Mein. Fg. positiv | Wa. negativ | S.-G. M. Fg. negativ | Wa. positiv | Wa. S.-Georgi positiv | Meinicke Fg. negativ | Wa. S.-Georgi negativ | Meinicke Fg. positiv | Wa. Mein. positiv | S.-Georgi Fg. negativ | Wa. Mein. negativ | S.-Georgi Fg. positiv | Wa. Fg. positiv | S.-Georgi M. negativ | Wa. Fg. negativ | S.-Georgi M. positiv |
| Zahl der unter- suchten Fälle | — | — | 4 | 4 | 9 | 9 | — | — | 1 | 1 | — | — | 1 | 1 | — | — |
| Zahl der Fälle in Proz. | — | — | 2,5 | 2,5 | 5,7 | 5,7 | — | — | 0,6 | 0,6 | — | — | 0,6 | 0,6 | — | — |

Tabelle Ib.

| | Formolgelat. und Wassermann-Reaktion | | | | Formolgelat. u. S.-Georgi-Reaktion | | | | Formolgelat. u. Meinicke-Reaktion | | | |
|-------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|
| | Formolgel. u. Wasserm. positiv | Formolgel. positiv Wasserm. negativ | Formolgel. negativ Wasserm. positiv | | Formolgel. u. S.-Georgi positiv | Formolgel. positiv S.-Georgi negativ | S.-Georgi positiv Formolgel. negativ | | Formolgel. u. Meinicke positiv | Formolgel. positiv Meinicke negativ | Formolgel. negativ Meinicke positiv | |
| Zahl der Fälle | 22 | 35 | 30 | | 13 | 34 | 28 | | 11 | 21 | 25 | |
| Zahl der Fälle in Proz. | 10,4 | 16,6 | 14,2 | | 7,4 | 19,3 | 15,9 | | 6,8 | 13 | 15,4 | |

gezeugen waren, oft mit älteren und $\frac{1}{2}$ Stunde lang inaktivierten Sera zu arbeiten. Die Formolgelatinierung war nur in 42 Proz. der nach Wassermann positiven Fälle, in 31 Proz.

der nach Sachs-Georgi positiven Fälle und in 31 Proz. der nach Meinicke positiven Fälle positiv. Andererseits fanden wir in 23 Fällen von 211 positive Formolgelatinierung, in denen alle drei Luesreaktionen negativ ausgefallen sind. Die Diskrepanz zwischen Formolgelatinierung und Wassermann-Reaktion wird noch augenscheinlicher, wenn man solche nicht übereinstimmende Fälle betrachtet, in denen eine der erwähnten Reaktionen positiv ist. Dann findet man unter 211 Fällen 65 positive Wassermann- bzw. Formolgelatinierung, die nicht übereinstimmen, und zwar: 30 Wassermann-positive und Formolgelatinierung-negative, und 35 Wassermann-negative und Formolgelatinierung-positive; 62 positive Sachs-Georgi- bzw. Formolgelatinierungs-Reaktionen, und zwar: 28 Sachs-Georgi-positiv, Formolgelatinierung-negativ, und 34 Sachs-Georgi-negativ und Formolgelatinierung positiv; 46 positive Meinicke- bzw. Formolgelatinierungsreaktion, und zwar 25 Meinicke-positiv, Formolgelatinierung negativ, und 21 Meinicke-negativ und Formolgelatinierung positiv.

Die große Zahl der mit allen vier Reaktionen negativen Sera ist nicht interessant; weiter unten werden wir aber diese Fälle besprechen, in denen nur die Formolgelatinierung positiv ausfällt. Obwohl die Zahl der untersuchten Fälle eine verhältnismäßig kleine ist, geht aus den Versuchsergebnissen klar hervor, daß die Formolgelatinierung für Lues nicht spezifisch ist und daß der positive Ausfall meistens bei den nichtluetischen Sera zu beobachten ist. Nach diesen mit der Formolgelatinierung gewonnenen Erfahrungen konnte es nicht unser Zweck sein, eine Arbeit größeren statistischen Umfanges zu unternehmen. Das Ergebnis ist auch so ganz eindeutig. Ein Vergleich der wohlbekannten Luesreaktionen war auch nicht bezweckt.

III. Da wir fanden, daß die Formolgelatinierungsreaktion für Lues nicht spezifisch ist, haben wir in weiteren den Mechanismus der Reaktion betreffenden Untersuchungen die vermutlichweise unspezifischen chemischen bzw. konstruktiven Veränderungen derluetischen Sera vor Augen gehalten.

Es wurden an der Hand der Analyse des Mechanismus der spezifischen Luesreaktionen von zahlreichen Forschern [Friedmann (4), Hirschfeld und Klinger (5), Landsteiner und Müller (6), Schmidt (7), Groß und Volk (8), Elias, Neubauer, Porges und Salomon (9), Kapsenberg (10)], die Rolle einer Globulinveränderung desluetischen Serums in der Wassermannschen Reaktion nachgewiesen. Neuere Untersuchungen sprechen gegen die spezifische Bedeutung dieser Veränderung (vgl. Gloor und Klinger (11), Sahlmann (12), Jantzen (13) und Winternitz (14), fand das Fibrin bei Luetikern vermehrt, doch scheint auch diese Erscheinung nicht spezifisch zu sein. Das eigenartige Verhalten derluetischen Sera gegenüber den Lipoidemulsionen war auch dem Einflusse der Veränderung der Lipide imluetischen Serum zugesprochen. Peritz (15) fand eine Vermehrung des Lezithins imluetischen Serum. Neuerdings folgerte E. Fraenkel (16) auch auf indirektem Wege auf eine qualitative Veränderung des Lipoidgehalts im Serum. Er vermutet, daß die Fällung der Extraktlipide, um was es sich nach Epstein und Paul (17), A. Niederhoff (18), Mandelbaum (19), Scheer (20), bei den Ausflockungsreaktionen handelt, von dem Gehalt des Serums an gewissen Lipiden abhängig ist.

Nun ist aber nach unserer Anschauung der Mechanismus der Ausflockungsreaktion durch die erwähnten Hypothesen noch nicht vollständig erklärt. Es ist zwar gelungen, durch verschiedene drastische Eingriffe negative Sera positiv zu machen, z. B. Ansäuern mit verdünnter HCl [Sachs und Altmann (21)], durch Eiweißabbauprodukte [Mahlo (22), Bachmann (23)]. Diese Eingriffe setzen jedoch das Serum zum Teil in einen solchen Zustand, dessen natürliches Analogon nicht denkbar ist, zum Teil lieferten diese Versuche widersprechende Resultate bei den verschiedenen Luesreaktionen. Wir glauben demnach insbesondere bezüglich der Veränderung des Serumglobulins bei Lues, aber auch bezüglich der Veränderung des Lipidstoffwechsels gegenüber nicht spezifischen Serumveränderungen zu stehen, die auch in anderen pathologischen Fällen vorkommen, und eine Veränderung der Plasmastruktur und der Kolloidkorrelation im Serum bedingen, jedoch die spezifische Luesreaktion nicht verursachen.

Für die Formolgerbung scheinen uns aber eben die Zustandsänderungen der Serumkolloide ausschlaggebend zu sein. Wie schon erwähnt, läßt sich aus an Gelatine vorgenommenen Versuchen vermuten, daß die Gerbung an grobdispersen Teilen beginnt und an der Oberfläche derselben weiter er-

folgt¹⁾. Demnach war auch daran zu denken, daß durch relativ grobdisperse Globulinteilchen oder auch Lipoidemulsionen die Gerbung des Serums erleichtert wird. Zunächst untersuchten wir Serumglobulin- und Serumalbuminfraktionen in der im Serum vorkommenden Konzentration, dann auch Nutrose, Eieralbumin in 7-proz. Lösung, auch fügten wir diese Substanzen zu negativen Sera hinzu, und zwar 20—50 mg zu 1 ccm. Ein Teil der Globuline und der Nutrose flockt nach Hinzufügen dieser Substanzen rascher aus.

Eieralbumin und Serumalbumin bleiben klar, werden zuerst augenscheinlich visköser, nach 24 Stunden wird die Viskosität wieder normal. Gelatinierung findet nicht statt. Es scheint also, daß Albumine eher eine Neigung haben, strukturbildende Eigenschaften nach der Gerbung anzunehmen als Globuline. Den Zustand der Globuline wollten wir dadurch verändern, daß wir die Sera mit 1—2 Tropfen 20-proz. Essigsäure ansäuerten.

1) Dispersitätsgrad, Hydratation und Ladung der elektrischen Doppelschicht (Donan-Gleichgewicht), sind bei den einzelnen Kolloiden zusammenhängende Zustandseigenschaften, von denen das primär veränderte, unter gegebenen Bedingungen, die Doppelschicht, oder, wie üblich genannt, Ladung der Kolloidteilchen ist. Die Änderung der Ladung verursacht eine Veränderung der Hydratation und des Dispersitätsgrades. Einzelne Kolloidsysteme sind nicht auf Grund einer dieser Eigenschaften miteinander vollständig vergleichbar, da der Zusammenhang zwischen Ladung der Doppelschicht, Hydratation und Dispersitätsgrad bei den einzelnen Kolloiden verschieden sein kann. Die Dispersität z. B. ist für eine Reihe von Eigenschaften kolloider Systeme keine charakteristische Größe und auch nicht für die Stabilität. Andererseits hängt z. B. der Dispersionseffekt (Trübung) bei gleich geformten Teilchen in großer Annäherung von der Teilchengröße (auch vom Brechungsexponent des Dispersionsmittels und des dispergierten Stoffes), nicht aber von der Ladung, Hydratation usw. ab. Abhängigkeit einer Erscheinung vom Dispersitätsgrade, in dem Sinne, wie es bei dem Dispersionseffekt der Fall ist, und Abhängigkeit im Sinne des Stabilitätszustandes sind zwei voneinander scharf zu trennende Dinge. Bei der Gerbung, wie es aus Versuchen, die weiter unten folgen, hervorgeht, stehen wir einer Erscheinung gegenüber, die nicht von dem Stabilitätszustande, sondern eher von der Teilchengröße abhängig ist. Demnach scheint es wahrscheinlich zu sein, daß grobdisperse Globulinteilchen oder auch Lipide die Gerbung des Serums erleichtern.

Dadurch erleiden die Globuline eine langsam vor sich gehende Dispersitätsveränderung und bilden anscheinend Gerbungskeime, so daß nach 48 Stunden die Sera vollständig erstarren. In Gegenwart von Pepton erfolgt die Gerbung des angesäuerten Serums rascher. Ebenso konnten wir auch mit 0,20 ccm 2-proz. $MgSO_4$ -Lösung pro Kubikzentimeter Serum dasselbe gerbungsfähig machen. Zuerst erleidet das Serum eine Trübung, es bleibt jedoch in den ersten 24 Stunden flüssig und erstarrt erst in 48 Stunden zum Zeichen dessen, daß die Trübung der primäre Vorgang ist. Dasselbe gelingt auch mit anderen Salzlösungen. Weiterhin haben wir Lipide, Lezithin und Cholesterin, alkoholische Organextrakte dem Serum hinzugefügt. Mit geringen Mengen 1–3 mgr pro Kubikzentimeter konnten wir keine Veränderung im Serum hervorrufen. An Lezithin gesättigte Sera erstarrten nach 24–48 Stunden, Cholesterin blieb auch in dieser Weise angewandt unwirksam. Ebenso auch die Organextrakte.

Tabelle II.
Formogelatinierung des Kaninchenserums mit Zusätzen.

| Quantität des Zusatzes zu 1 ccm Serum | Zusatz | Ausfall der Reaktion |
|---------------------------------------|---|----------------------|
| 0,02 g | Natriumkaseinat | — |
| 0,02 „ | Alb. ovis sic. | — |
| 0,05 „ | Pepton | — |
| 0,05 „ | Urea pura | — |
| 0,05 „ | Glykokoll | — |
| gesättigt | Lezithin | — |
| „ | „ + 3 Tropfen 20-proz. Essigsäure | + |
| „ | Cholesterin | — |
| „ | „ + 3 Tropfen 20-proz. Essigsäure | + |
| „ | 3 Tropfen 20-proz. Essigsäure | + |
| 0,2 ccm | 2-proz. Ammonsulfat | + |
| 0,2 „ | 20-proz. Natriumcitrat | + |
| 0,04 „ | Tierkohle | + |
| 0,04 „ | „ im Brutschrank digeriert, nachher zentrifugiert | + |

Wir haben auch Harnstoff, Glykokoll und Witte-Pepton auf ihre Wirksamkeit bei der Gerbungsreaktion untersucht, doch fanden wir, obwohl die angewandten Mengen, die im Organismus natürlich vorkommende Konzentrationen weit übertrafen, keine positiven Ergebnisse.

Es scheint demnach, daß der eigentliche, infolge der Gerbung erstarrungsfähige Serumbestandteil das Serumalbumin ist. Damit aber die Erstarrung tatsächlich stattfindet, benötigt das Serumalbumin Gerbungskeime. Die Richtigkeit dieser Annahme konnten wir auch dadurch beweisen, daß wir zum negativen Serum Tierkohle hinzufügten, gut durchschüttelten und dann ein Teil abzentrifugiert, ein Teil ohnedem mit Formalin versetzten. Beide Teile erstarrten nach 24 Stunden. Das von der Kohle durch Zentrifugieren befreite Serum blieb grau und trübe, zum Zeichen dessen, daß eben die feinsten Kohleteilchen suspendiert blieben; also waren es hier die Kohleteilchen, die als Gerbungskeime dienten. Noch größere Suspensionen machten das Serum nicht erstarrungsfähig.

IV. Durch diese Feststellung wurde unsere Aufmerksamkeit auf solche pathologische Sera gelenkt, die nach neueren Untersuchungen [Langstein und Mayer (24), Globulinvermehrung, Fahreus (25), Suspensionsstabilität, Darányi (26), leichtere Ausflockbarkeit durch Alkohol, Temperaturerhöhung, Kottmann (27), Veränderung der Sensibilisierungsfähigkeit der Sera für die photochemische Zersetzung der Haloide] eine leichtere Flockbarkeit einzelner Bestandteile (Globulin) und vielleicht eine Vergrößerung der Dispersität der Serumkolloide aufweisen.

Diese Sera stammen, wie bekannt, von Kranken, bei denen aus irgendeinem Grunde ausgedehnter parenteraler Eiweißzerfall stattfindet. Ueber das Entstehen dieser Serumveränderung sind in unserem Institute Untersuchungen im Gange, deren Ergebnisse demnächst mitgeteilt werden. Hier sei nur so viel erwähnt, daß diese bei ausgedehntem Eiweißzerfall auftretenden Strukturveränderungen des Blutes, und auch die Veränderung der Kolloidkorrelation in den entsprechenden Sera, nach unserer Auffassung teilweise auch durch hochmolekulare Eiweißabbauprodukte bewirkt werden können. Die Entstehung dieser wirksamen Eiweißabbauprodukte hängt höchstwahrscheinlich mit dem oxydativen Charakter des parenteralen Eiweißabbaus zusammen. Die Hauptrepräsentanten dieser Körper sind die Proteinsäuren.

Ueber eine vermehrte Proteinsäureausscheidung bei parenteralem Eiweißzerfall berichteten schon Weiß (28), Salomon und Saxl (29),

Falk und Hesky (30) usw., anderseits haben Bechhold und Reiner (31), Schemensky (32) die Erhöhung des Kolloidgehaltes des Harnes in ähnlichen Fällen nachgewiesen. Sie nannten diese stark oberflächen-aktiven Stoffe Stalagmone und wiesen auch auf einen Zusammenhang mit der Suspensionstabilität der Blutkörperchen hin. Es wurde auch gezeigt, daß die Stalagmone vorwiegend aus Proteinsäuren bestehen.

Da wir festgestellt haben, daß die Gelatinierung des Serums durch Gerbungskeime gefördert wird, so war nahelegend, daran zu denken, daß dieselben Kolloidveränderungen des Serums die Gelatinierbarkeit nach Formalinzusatz bewirken. In diesem Falle mußten sich die Stalagmone auch in der Gelatinierungsreaktion wirksam erweisen. Wir haben dem Serum nun Lösungen der Stalagmone hinzugefügt und gefunden, daß tatsächlich einige Milligramm in 1 ccm Serum genügen, um das Serum durch Formalin gelatinierbar zu machen. Die Gelatinierung erfolgt auffallend rasch schon in einigen Stunden. Wir haben diese Versuche so ausgeführt, daß wir die Harnkolloide nach einer, der Salkowskyschen ähnlichen Methode (33) isolierten. Wir versetzten den zu dünnem Syrup eingedampften Urin mit 70-proz. Alkohol, filtrierten ab, dampften wieder ein und fällten dann mit einem Gemisch von absolutem Alkohol und Aether. Nach mehrmaligem Auswaschen des Niederschlags mit absolutem Alkohol lösten wir ihn in destilliertem Wasser auf. Die Konzentration der in Frage kommenden Substanzen war ca. 20mal so groß, wie im ursprünglichen Urin. Vor der Verwendung wurden sie ungefähr auf gleiche Farbenintensität gebracht und mit Na_2CO_3 neutralisiert. Solche Lösungen enthielten ca. 10 Proz. Trockensubstanz. Wir brachten absteigende Mengen in kleine Reagenzgläser und dampften bis zu einem Tropfen im Wasserbade ein und versetzten es dann mit Serum und Formalin. Unter den Stalagmonen verschiedener Herkunft konnten wir keinen wesentlichen Unterschied nachweisen (siehe Tabelle III).

Die vorhandenen Schwankungen sind durch die Verschiedenheiten in der Konzentration der wirksamen Stoffe erklärbar. Wie auch bei anderen Reaktionen, so scheinen auch die Proteinsäuren hier als ein fällendes Agens zu fungieren. Sie liefern Gerbungskeime, indem sie die Dispersität der Serumeiweißbestandteile vergrößern. Die Erstarrung des

Tabelle III.

| Herkunft des Stalagmons | 0,2 ccm | 0,10 ccm | 0,075 ccm | 0,05 ccm |
|-------------------------|-----------------------|----------|-----------|----------|
| | der Stalagmonlösungen | | | |
| Tuberkulose 1 | + | + | + | + |
| " 2 | + | + | | |
| " 3 | + | + | + | — |
| Perniziöse Anämie | + | + | + | — |
| Sarkom | + | + | + | — |
| Lues 1 | + | + | + | — |
| " 2 | + | + | + | + |
| Gravidität 1 | + | + | + | + |
| " 2 | + | + | + | + |
| " 3 | + | + | + | + |

Anmerkung. Die Stalagmone verschiedener Herkunft wurden durch Verdünnung auf gleiche Farbe gebracht. Trockengehalt pro 1 ccm: Tb. 2 0,103 g, Tb. 3 0,093 g, Sarkom 0,112 ccm, pern. Anämie 0,127 g.

Serums erfolgt meistens ausgehend aus einem Niederschlags-
teilchen, das sich zuweilen bei der Hinzufügung des Formalins bildet. Das konnte man schön so demonstrieren, daß man in das Reagenzglas, das 1 ccm Kaninchenserum, 0,2 ccm einer Proteinsäurelösung und 0,1 ccm Formalin enthielt, einen mit Formalin oder Proteinsäurelösung benetzten Seidenfaden tauchte. Dann erfolgte die Trübung und das Erstarren von dem Seidenfaden ausgehend abwärts und viel rascher als in einer Kontrolle, die keinen Seidenfaden enthielt und anscheinend gleichmäßig oder eher von unten nach aufwärts erstarrte.

Wir konnten auch nachweisen, daß nicht nur Serumalbumine, sondern auch Albumine anderer Herkunft durch Proteinsäuren eine ähnliche Veränderung erleiden. So zeigten sich verschiedene Stalagmonlösungen für Eieralbumin wirksam, jedoch nicht für Natriumkaseinat.

Tabelle IV.

| 0,15 ccm Stalagmon zu 1 ccm 10-proz. Ovalbumin | |
|---|---|
| Tuberkulose 3 | + |
| Anämie | + |
| Sarkom | + |

Wir haben auch andere Fraktionen im Urin befindlicher kolloider Körper untersucht, und zwar eine mit doppelten

Volumen absoluten Alkohols [nach Morawitz und Dietschy (34*)] und eine mit 8 g Ammonsulfat pro 10 ccm Urin [nach Bang (35*)] bereitete Lösung von Albumosen aus Urin und aus Witte-Pepton, dann auch den ätherigen Extrakt des ein-konzentrierten Urins, mit negativem Erfolg.

Es ist ohne Zweifel, daß die hochmolekularen säureartigen oxydierten Eiweißabkömmlinge für die Gelatinierbarkeit der Sera und demnach auch für die vorhergehenden Strukturveränderungen eine besondere Bedeutung haben. Zwar gelingt es auch, durch Zusatz anderer Körper negative Sera erstarrungsfähig zu machen, doch muß man in diesen Fällen viel größere Mengen anwenden, als es den physiologischen oder pathologischen Verhältnissen entsprechen würde, oder auch solche Substanzen benutzen, die im physiologischen und pathologischen Serum gar nicht in Frage kommen. Dasselbe gilt für die Gelatinierbarkeit des Serums nach dem Ansäuern mit Essigsäure. Die Aenderung der H⁺-Konzentration in pathologischen Fällen, besonders Infektionskrankheiten, zeigt tatsächlich eine Tendenz zur Erhöhung. Sie ist aber fast unmerkbar klein und erreicht bloß einige Hundertstel in p_H. Es kann also von der Wirkung der freien H⁺ nicht die Rede sein. Es ist jedoch sehr wahrscheinlich, daß die Blutkolloide eine gewisse Rolle in der Regulation der H⁺-Konzentration des Blutes besitzen, und so auch bei derselben H⁺-Konzentration Aenderungen erleiden, welche — wenn man sich so ausdrücken darf — eher von der Gesamtazidität oder besser von der Menge der gebundenen Säure abhängig sind, und die in der Veränderung der Dispersität und Hydratation ebenfalls zum Ausdruck kommen. Demnach ist es diskutierbar, ob nicht auch dem saueren Verhalten der Proteinsäuren eine gewisse Rolle in der Strukturveränderung des Blutes auch in solchen Fällen einzuräumen ist, in welchen die H⁺-Konzentration keine meßbare Veränderung erleidet.

Außer dieser keimfördernden Wirkung der Stalagmone könnte man bei ihnen auch eine, die Strukturbildung fördernde Eigenschaft annehmen. Dies wäre mit ihrer Hydrophilie und und mit ihrem stark ausgeprägten polaren Charakter im Einklange.

V. Es gibt eine Reihe von Krankheiten, bei denen die Strukturveränderung des Blutes und die Veränderung der Kolloidkorrelation im Serum an der Hand der schon erwähnten Erscheinungen bzw. Reaktionen festgestellt wurde. Da nach unserer Auffassung dieselben ebenso wie die Formolgelatinierung vorwiegend als eine Wirkung der erwähnten Eiweißabbauprodukte aufzufassen sind, muß auch die Formolgelatinierung in denselben Fällen positiv ausfallen, wie die schon auf S. 139/40 erwähnten Reaktionen.

Unter den Versuchstieren zeigt das Pferdeblut eine auffallend große Suspensionslabilität. Wir haben die Gelatinierbarkeit des Pferde-, Ratten-, Meerschweinchen- und Kaninchenserums untersucht und nur das Pferdeserum gelatinierbar gefunden. Merkwürdigerweise fanden Gaté und Papcostas (1c) auch das Pferdeserum nicht gelatinierbar.

Tabelle V.
Formolgelatinierungsreaktion des Serums in verschiedenen pathologischen Fällen.

| Diagnose | Tbk. | Sarkom | Ca. periton. | Lymphdrüsen-schwell. | Eryth. nodos. | Gravid. | Eecl. gravid. | Tbk. | Ca. |
|----------------------|------|--------|--------------|----------------------|---------------|---------|---------------|------|-----|
| Zahl der Fälle | 9 | 1 | 1 | 2 | 1 | 14 | 1 | 2 | 1 |
| Ausfall der Reaktion | + | + | + | + | + | — | — | — | — |

Von den in Frage kommenden pathologischen Sera, die uns bloß spärlich zur Verfügung standen, haben wir außer Lues bloß einige Fälle von Tuberkulose, Karzinom, Sarkom, perniziöser Anämie und Schwangerschaft untersuchen können. Es zeigt sich, daß diese Krankheiten, die Schwangerschaft ausgenommen, in der Mehrheit der Fälle positive Ergebnisse liefern. Daß Schwangerschaft im Gegensatz zu der Suspensionsstabilität des Blutes bei dieser Reaktion sich nicht so benimmt wie die anderen erwähnten Krankheiten, findet seine Erklärung darin, daß man hier mit Serum arbeitet. So fand auch Darányi (26), daß seine Serumausflockungsreaktion

bei Schwangerschaft fast regelmäßig negativ ausfällt. Bei der Laktation ist übereinstimmend mit der Formolgelatinierungsreaktion auch seine Reaktion positiv.

Jedenfalls muß es auch betont werden, daß die Formolgelatinierung keine besonders empfindliche Reaktion für die Kolloidveränderung des Serums ist. Einer eingehenden Diskussion klinischer Fälle wollen wir uns so lange enthalten, bis wir die Methodik der Formolgelatinierungsreaktion so weit verfeinert haben, daß wir auch quantitative Unterschiede damit wahrnehmen können. Einstweilen werden wir die Formolgelatinierung als eine einfache, für den parenteralen Eiweißzerfall und Zerstörungsprozeß im Organismus charakteristische, jedoch nicht sehr empfindliche Reaktion betrachten. Für Lues ist sie im üblichen Sinne nicht charakteristisch, sie kann positiv ausfallen, falls es bereits zu einem erhöhten Eiweißzerfall gekommen ist.

Frl. cand. med. I. Egri war bei der Ausführung der Experimente uns mit bewährtem Geschick zu Hilfe, wofür wir ihr unseren Dank auch hier aussprechen.

Zusammenfassung.

1) Die von Gaté und Papacostas beschriebene Gelatinierungsreaktion der Sera erweist sich für Lues nicht spezifisch. Mehr als die Hälfte der positiv ausfallenden Formolgelatinierungsreaktionen kommt den nichtluetischen Seris zu.

2) Die Reaktion ist ein Gerbungsvorgang. Durch die Reaktion mit Formalin wird den Albuminen eine strukturbildende Fähigkeit verliehen. Es kommt jedoch nur dann zur Erstarrung des Serums, wenn Gerbungskeime, grobdisperse Teilchen (Globulin oder auch Tierkohle, Lezithinemulsion usw.) vorhanden sind.

3) Von den Substanzen, die, dem Serum zugesetzt, dasselbe für die Formolgelatinierungsreaktion geeignet machen, kommen vom pathologischen Standpunkte die Proteinsäuren in Betracht.

4) Die Formolgelatinierung ist in solchen Krankheitsfällen positiv, in welchen auch die übrigen bekannten für den erhöhten Eiweißzerfall charakteristischen Reaktionen positiv ausfallen.

Anmerkung bei der Korrektur: Inzwischen wurden über denselben Gegenstand in französischen und englischen Zeitschriften einige Arbeiten veröffentlicht. In den meisten wird bloß die Frage der Uebereinstimmung mit der Wassermannschen Reaktion behandelt (36). Man findet, daß die Reaktion bei den meisten Infektionskrankheiten positiv ausfällt und folgert daraus mit Recht, daß dieselbe als eine sogenannte „Kolloidlabilitätsreaktion“ anzusehen ist (37). Bessemans glaubt, daß die erstarrungsfähige Substanz das Globulin ist. Dies trifft nach den Obenstehenden nicht zu (38).

Wir haben über das interessante kolloidchemische Verhalten des bei der Reaktion sich bildenden Formaldehyd-eiweißes weitere Untersuchungen vorgenommen, deren Ergebnisse demnächst in der Kolloidzeitschrift veröffentlicht werden.

Literatur.

- 1) a) Gaté und Papacostas, Compt. rend. soc. biol., T. 83, p. 1432—34. C. 1921, II, 892.
 b) — — Compt. rend. soc. biol., T. 85, p. 869—70. C. 1922, I, 662.
 c) — — Compt. rend. soc. biol., T. 85, p. 1029—30. C. 1922, I, 662.
- 2) Reiner, Kolloidzeitschr., Bd. 27, S. 195.
- 3) Möller, Kolloidzeitschr., Bd. 29, S. 45.
- 4) Friedmann, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 67, S. 279.
- 5) Hirschfeld und Klinger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, S. 40.
- 6) Landsteiner und Müller, Wiener klin. Wochenschr., 1908, S. 1076.
- 7) Schmidt, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 69, S. 513.
- 8) Groß und Volk, Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 18.
- 9) Elias, Neubauer, Porges und Salomon, ebenda, 1908, No. 21.
- 10) S. Kapsenberg, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31, S. 301.
- 11) Gloor und Klinger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, S. 435.
- 12) Sahlmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, S. 130.
- 13) Jantzen, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, S. 156.
- 14) Winternitz, Arch. f. Derm. u. Syph., Bd. 101, S. 227.
- 15) Peritz, Zeitschr. f. exp. Ther. u. Path., Bd. 5, 1909, S. 607.

- 16) E. Fraenkel, Berl. klin. Wochenschr., Bd. 58, S. 198.
- 17) Epstein und Paul, Arch. f. Hyg., Bd. 90, Heft 3.
- 18) Niederhoff, Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 11.
- 19) Mandelbaum, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 33.
- 20) Scheer, Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 2.
- 21) Sachs und Altmann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 10.
- 22) Mahlo, Beitr. z. Klin. f. Infektionskrankh. usw., zit. nach Bachmann.
- 23) Bachmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, S. 233.
- 24) Langstein und Mayer, Hofm. Beitr., Bd. 5, S. 69.
- 25) R. Fahreus, The suspension stability of the blood. Stockholm 1921.
- 26) Darányi, Deutsche med. Wochenschr., Bd. 48, No. 17.
- 27) Kottmann, Schweiz. med. Wochenschr., 1920, S. 644.
- 28) Weiß, Biochem. Zeitschr., Bd. 27, S. 411.
- 29) Salomon und Saxl, Med. Klin., 1910, S. 510. Beitr. z. Karzinomforsch.
- 30) Falk und Hesky, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 41, 1910, S. 261.
- 31) Bechhold und Reiner, Münch. med. Wochenschr., 1920, S. 891.
- 32) Schemensky, Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 43.
- *33) Salkowsky, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 38.
- *34) Morawitz und Dietschy, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 54, S. 88.
- *35) Bang, Deutsche med. Wochenschr., Bd. 24, S. 17.
- 36) Leger et Huchard, Compt. rend. de la soc. biol., T. 86, p. 999.
 Nicolas, Compt. rend. de la soc. biol., T. 86, p. 11.
 Bettencourt, Compt. rend. de la soc. biol., T. 86, p. 620.
 Ecker, Journ. of inf. diseases, Vol. 29, p. 359.
 Burke, Arch. of dermat. and syph., Vol. 5, p. 469.
 Webb, Journ. of the royal army med. corps, Vol. 38, p. 54.
 Armangué, Journ. of inf. dis., Vol. 30, p. 443.
 Grosso, Pathologica, Vol. 13, p. 316.
 Tarzani, Riv. crit. di clin. med., Vol. 22, p. 388.
- 37) Gaté et Papacostas, Compt. rend. de la soc. biol., T. 87, p. 543.
 Turkud and Avari, Ind. Journ. of med. res., Vol. 7, p. 850.
 Combiesco, Compt. rend. de la soc. biol., T. 87, p. 155.
- 38) Bessemans, Compt. rend. de la soc. biol., T. 87, p. 101, 104, 398, 401.
 * Zitiert nach Neuberg, Der Harn, 1911.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Tschitaer Veterinärinstitutes (Direktor: A. A. Dudukalow).]

Studien über die Konglutination und über das Schwanken des Konglutiningehaltes im Serum gesunder und kranker Rinder¹⁾.

Von Dr. Heinrich M. v. Jettmar.

(Eingegangen bei der Redaktion am 22. Juli 1922.)

(Die Veranlassung zu diesen Arbeiten bot eine Unterredung mit dem Vorstände der Tschitaer Rinderpeststation, Herrn A. A. Dudukalow, in welcher er mich aufforderte, das Verfahren der Komplementbindungsmethode in Form der Wassermannschen Versuchsanordnung auf Rinderpest anzuwenden. Da alle diesbezüglichen Versuche zu keinen brauchbaren Resultaten führten, sei auf dieselben nicht weiter eingegangen. Bei dieser Gelegenheit beobachtete ich nach Anwendung frischer, im Vollbesitze ihres Komplementes stehender Sera²⁾ das grundverschiedene Verhalten der gesunden Rindersera einerseits und der Rinderpestsera andererseits zur Hämagglutination der sensibilisierten Hammelblutkörperchen. Bei allen weiteren Versuchen eliminierte ich das Antigen und unterzog das Hämagglutinationsphänomen einem genaueren Studium.)

Zu Beginn meiner Versuche untersuchte ich stets gleichzeitig zwei Sera, und zwar: 1) das eines rinderpestkranken Tieres, entnommen im Momente seiner Entblutung, welche in der Regel am 7.—9. Tage nach der Einverleibung des Virus, also auf der Höhe des Krankheitsprozesses, erfolgte, und 2) das Serum eines einwandfrei gesunden Tieres³⁾. Beide Sera wurden steril, ungefähr gleichzeitig und unter gleichen Umständen aus der Vena jugularis entnommen, nach ihrer Abscheidung vom Blutkuchen abpipettiert und leicht zen-

1) Die zusammenfassenden Ergebnisse dieser Arbeit wurden noch während meiner Kriegsgefangenschaft in der Form einer vorläufigen Mitteilung in Bd. 85 des Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., veröffentlicht.

2) Modifikation der Wassermannschen Versuchsanordnung nach Margarete Stern siehe Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, 1909, Heft 3, S. 422—438.

3) Zu späteren Versuchen verwendete ich häufig die Sera gesunder rinderpestimmunisierter Tiere.

trifugiert. Die Untersuchung der frischen Sera wurde in der Regel noch an demselben Tage ausgeführt.

Es wurden ansteigende Mengen der Rindersera (0,1 bis 0,5 ccm) mit 5-proz. sensibilisierten¹⁾ Hammelblutkörperchen bei einer Temperatur von 36—38° digeriert. Es sei hier der Versuchsverlauf bei einem Serumpaare eingehender geschildert: Bereits 10—20 Minuten nach Zugießen der sensibilisierten Hammelblutkörperchen bemerkt man in den Röhrchen mit den größeren Serummengen vom gesunden Tiere (0,5 bis 0,2 ccm) eine deutliche Aufhellung der Flüssigkeit und starke Sedimentierung des Bodensatzes, während die entsprechenden Röhrchen des pestkranken Tieres noch gleichmäßig getrübt erscheinen. Bei näherem Zusehen nimmt man wahr, daß in den Röhrchen „0,5—0,2 gesund“ der Niederschlag, d. i. die nicht hämalysierten sensibilisierten Hammelblutkörperchen in Form eines zusammenhängenden Häutchens sich an den Boden der Eprouvette fest angeklebt haben, was bei den Röhrchen „Rinderpest“ nirgends der Fall ist. Hebt man die 2 entsprechenden Röhrchen mit den größten Serummengen aus dem Stativ und schüttelt sie völlig gleichmäßig durch mehrere leichte Schläge, so wird der Unterschied noch deutlicher. In den Röhrchen „Pest“ reiben sich die bereits sedimentierten sensibilisierten Hammelblutkörperchen völlig gleichmäßig und leicht vom Boden des Röhrchens ab, so daß die homogene Trübung der Flüssigkeit noch verstärkt wird. In den Röhrchen „0,5—0,3 gesund“ hingegen zeigt sich das gebildete Häutchen dem Schütteln gegenüber resistent; endlich läßt es sich doch von den Wänden abschlagen, und zwar in Fetzen, welche, einige Augenblicke in der Flüssigkeit schwebend, sich wieder zu Boden senken und zu einem einzigen Klumpen zusammenballen. Die Flüssigkeit, welche nur leichte hämolytische Tönung zeigt, bleibt während der ganzen Prozedur klar. Schon hat sich in der Zwischenzeit auch in den Röhrchen mit den geringen Serummengen (0,2 bis 0,1 ccm) derselbe Unterschied ausgebildet. In allen Röhrchen mit dem gesunden Serum: Aufhellung der Flüssigkeit, das

1) Bei den späteren Versuchen kamen oft nicht sensibilisierte Erythrozyten in Anwendung.

fest an den Wänden angeklebte Häutchen, nach dem Abschütteln desselben Fetzen oder Flocken, die sich allsogleich auf dem Röhrchenboden zu einem Klumpen zusammenballen. In den „Pestserum“-Röhrchen nicht die Spur dieses Phänomens. Hämolyse leichten oder mittleren Grades tritt unterschiedslos in beiden Seris ein, namentlich bei Anwendung größerer Serumquantitäten.

(Ich ließ mir stets zwei mir unbekannte Sera zur Untersuchung verabfolgen, von denen das eine einem gesunden, das andere einem pestkranken Tiere entstammte, und immer gelang es mir, dieselben durch die beschriebene Reaktion richtig zu differenzieren.)

I. Das Rinderkolloid.

Das Rinderkolloid (Konglutinin) wurde von Bordet und Streng (1909) einem eingehenden Studium unterzogen. Es sei hier auf die grundlegende Arbeit dieser beiden Autoren besonders hingewiesen¹⁾.

Es lag nahe, daran zu zweifeln, daß im Tierreiche ausschließlich dem Serum des Rindes allein konglutinierende Substanzen innewohnen, insbesondere, nachdem Sachs und Bauer nicht nur dem Rinder-, sondern auch dem Ziegen- serum eine Hämolyse verstärkende Wirkung zusprachen. Dadurch fühlte sich Streng²⁾ veranlaßt, auch die Sera anderer Tiere, namentlich verschiedener exotischer Wiederkäuer (Alpakka, Kamel, Zebu, *Antilopus depressicornus*) — allerdings nur im inaktivierten Zustande — auf das eventuelle Vorkommen von Konglutininen zu prüfen.

Auf Grund dieser Untersuchungen, bei welchen als Indikatoren ausschließlich native Meerschweinchenblutkörperchen, als Sensibilisator und Komplement aktives Pferdeserum in Anwendung kamen, fand dieser Forscher, daß „die meisten Wiederkäuersera in Uebereinstimmung mit dem Rinderserum eine Zusammenballung, eine Konglutination der Blutkörperchen hervorrufen, sobald diese Blutkörperchen sensibilisiert und

1) J. Bordet et O. Streng, Les phénomènes d'adsorption et la congutinine du sérum de bœuf. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 49, 1909, Heft 2.

2) Oswald Streng, Ueber das Vorkommen der Konglutinine in den Seren verschiedener Tiere, besonders der Wiederkäuer. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 1909, p. 415—430.

alexiniert sind, während sie weder die nativen noch die nur sensibilisierten Meerschweinchenblutkörperchen zusammenballen, sie enthalten also dem Rinderkonglutinin ähnliche Substanzen“. Eine Ausnahme bildet nach Streng das Ziegenserum, welches weder native noch sensibilisierte Meerschweinchenblutkörperchen zusammenballt; andererseits übertrifft das Antilopenkolloid sogar noch das Rinderkolloid in seiner Wirkung gegenüber den Meerschweinchenerythrozyten.

Meine Untersuchungen erstreckten sich in diesem Gebiete bloß auf das zweihöckrige Kamel (*C. bactrianus*), dessen Serum ich in frischem, altem und inaktiviertem Zustande in seinem Verhalten zu den Blutkörperchen des Menschen, des Pferdes, des Hammels, des Kamels (evtl. Iso- oder Autoagglutinine) des Rindes, des Kaninchens und des Meerschweinchens studierte: Von diesen Erythrozyten wurden Menschen-, Pferde- und besonders die Kaninchenblutkörperchen ziemlich kräftig, aber verhältnismäßig spät zusammengeballt. Diese Agglutination erhielt ich sowohl durch frisches als auch durch altes natives und endlich durch inaktiviertes Kamelserum, das durch Hundealexin komplettiert wurde.

Die Blutkörperchen zusammenballende Wirkung des Kamelserums¹⁾ steht der des Rinderserums auf jedem Falle bei weitem nach. Als ein Hauptunterscheidungsmerkmal sehe ich das völlige Fehlen der Bildung eines Wandbeschlages, eines „Konglutinationshäutchens“ durch das Kamelserum an, ein Phänomen, welches durch frisches oder komplettiertes, normales Rinderserum stets ausgelöst wird. Auffallend ist das indifferente Verhalten des Kamelserums gegenüber den Hammel- und Rindererythrozyten, ein Befund, der besonders deshalb Beachtung verdient, da gerade Kamel- und Hammelblutkörperchen vom Rinderserum sehr sinnfällig konglutiniert werden (vgl. VP. 33, 34).

Dem Pferdeserum schreibt Streng ein „langsam wirkendes, oft ziemlich starkes Konglutinin“ zu. Es muß hier hervorgehoben werden, daß die starke, hämogglutinierende Wirkung des Pferdeserums gegenüber zahlreichen Erythrozytenarten²⁾ eine evtl. vorhandene konglutinierende Kom-

1) Das Blut wurde ausschließlich von gesunden Tieren entnommen.

2) An dieser Stelle sei noch eine Eigenart des Pferdeserums hervorgehoben: Obgleich dasselbe starke hämogglutinierende Wirkung gegenüber den meisten Erythrozytenarten aufweist, lassen sich gerade die Wiederkäuer-

ponente verdecken kann; so sei u. a. auf Versuchsprotokoll 40 hingewiesen, nach welchem native Sperlingserythrozyten sowohl durch natives frisches als auch durch inaktiviertes Pferdeserum in gleich starker Weise zusammengeballt werden; demnach handelte es sich in diesem Falle nicht um Konglutinine, sondern um thermostabile Hämagglutinine.

Obgleich dem Pferdeserum starke hämagglutinierende Eigenschaften innewohnen, es großen individuellen Schwankungen ausgesetzt ist und sehr rasch sein Alexin verliert ¹⁾, obgleich schon Bordet und Streng darauf aufmerksam gemacht haben, daß das Pferdeserum durch ein anderes Alexin, wie z. B. durch das des Rindes ersetzt werden kann, wurde doch in der Folge für das Studium der Konglutinationsreaktion ausschließlich Pferdeserum verwendet. Dies hauptsächlich wegen des schon erwähnten Mangels an hämolysierenden Eigenschaften in seinem Komplemente den meisten, selbst sensibilisierten Blutkörperchen gegenüber, wobei trotzdem dieses Alexin sich an die Blutkörperchen fixiert, ohne sie fürs erste zu schädigen. Außerdem besitzt, wie schon erwähnt, das Pferdeserum einen auf Meerschweinchenblutkörperchen stark wirksamen natürlichen Sensibilisator, was der Kombination: Pferdeserum als Alexin, Meerschweinchenerythrozyten als Indikatoren, welche in der Folge bei Studien über die Konglutination in der Regel beibehalten wurde, zugute kommt.

Anläßlich meiner Untersuchungen über die Rinderpestsera stellte ich mir die Aufgabe, eine möglichst vorteilhafte Kombination ausfindig zu machen.

Es handelte sich darum, ein Komplement zu finden, welches vor allem weder Konglutinine noch Hämagglutinine ²⁾ in größeren, den Versuch störenden Mengen enthält, ein Komplement, das in seinen Qualitäten verhältnismäßig stark, indi-

erythrozyten (von Rind, Hammel, Kamel) von ihnen nicht hämagglutinieren (vgl. Versuchsprotokoll 25 II, 33 und 41).

1) Nach Stranigg schon 16–20 Stunden nach dem Aderlaß (vgl. Zeitschr. f. Infektionskrankh. der Haustiere, Bd. 14, S. 166–185, 297–306).

2) Bezüglich der Unterschiede dieser zwei Serumqualitäten vergleiche auch Streng: „Agglutinin oder Konglutinin?“ Centralbl. f. Bakt., Bd. 52, S. 523–531. In dieser Arbeit wird allerdings nur Bakterienagglutination behandelt.

viduellen Schwankungen möglichst wenig ausgesetzt, leicht zu beschaffen und längere Zeit haltbar ist. Ferner mußten Blutkörperchen¹⁾ als Indikatoren für die Reaktion ausfindig gemacht werden, welche für die Konglutination leicht empfänglich, der Hämagglutination durch das Rinderserum jedoch gegenüber unzugänglich sind.

Der störendste Faktor für die Reaktion ist nicht die Hämolyse durch das Alexin, sondern weit störender ist das Vorhandensein einer hämagglutinierenden Komponente in der Versuchsanordnung; dieselbe kann sich entweder im Rinderserum oder im alexinierenden Serum vorfinden. Endlich können stark sensibilisierte Blutkörperchen allein durch die Serumverdünnung ihres spezifischen Ambozeptors nicht unbeträchtlich zusammengeballt werden.

Das Serum des Rindes hat gegen zahlreiche Erythrozytenarten starke hämagglutinierende Wirkung²⁾, vor allem gegenüber den Vogelerythrozyten (die stärkste Hämagglutination habe ich bei Anwendung von Entenerythrozyten beobachtet), welche sich aus diesen Gründen als Indikatoren wenig eignen; doch gibt es auch Erythrozyten, welche der thermostabilen Hämagglutination durch das Rinderserum nicht zugänglich sind; unter diesen mußte also gewählt werden.

Es gibt Erythrozytenarten, welche durch das Rinderserum fast oder überhaupt nicht konglutiniert werden, so z. B. die von Hund, Wolf und Katze. Derartige Blutkörperchen sind daher ebenfalls als Indikatoren unverwendbar.

Wir erkennen also, daß diese zahlreichen, die Reaktion störenden Faktoren das Vorhandensein verhältnismäßig nur wenig brauchbarer Kombinationsmöglichkeiten begreiflich machen.

In den folgenden Abschnitten habe ich die von mir gewählten Kombinationen in ihren Vor- und Nachteilen be-

1) In meinen Versuchen verwendete ich als Indikatoren ausschließlich Erythrocyten.

2) Daß es sich hierbei um echte thermostabile Hämagglutination handelt, davon kann man sich dadurch überzeugen, daß man das Rinderserum inaktiviert und ihm dann die Erythrozyten zusetzt. Es wird dann ebenfalls Zusammenballung stattfinden. In Bezug auf andere sinnfällige Unterschiede zur Hämagglutination und echter Konglutination siehe später.

schrieben; hier sei nur vorausgeschickt, daß ich dort, wo es sich um komplementloses resp. -armes Rinderserum handelte, die Kombination: „Hundeserum als Alexin, sensibilisierte Hammelblutkörperchen als Indikator“ allen übrigen Kombinationen vorzog.

Das Konglutinin gilt als ein sehr widerstandsfähiger Serumbestandteil. Es ist resistent gegenüber der eine halbe Stunde lang einwirkenden Inaktivierungstemperatur von 50—60°.

Es ist wohl richtig, daß die Reaktion auch mit inaktiviertem alexinierten Rinderserum ausgeführt werden kann; wendet man jedoch natives altes, durch mehrere Tage langes Lagern¹⁾ seines Komplementes verlustig gegangenes Rinderserum an, so erhält man viel deutlichere und kräftigere Konglutination als durch das inaktivierte Rinderserum. Der Prozeß des Inaktivierens führt demnach immerhin eine Schädigung der konglutinierenden Eigenschaften herbei.

Tagelang einwirkende Bruttemperatur (Verweilen der Rindersera im Thermostaten bei 40° C) führt ebenfalls zu einer Abschwächung und schließlich zu völligem Schwinden der Konglutinine (VP. 44. I). In der Kälte (siehe VP. 10) geht die Reaktion der Konglutination fast ebenso deutlich, wenn auch nicht so schnell vor sich als bei Bruttemperatur (häufiges Schütteln der Gläser vorausgesetzt).

Der Kälte gegenüber ist das Konglutinin vollkommen widerstandsfähig. Durch häufiges Gefrieren und Wiederauftauen kann man diesen Serumbestandteil völlig in der untersten Flüssigkeitsschicht konzentrieren, während die obersten Schichten diesen Stoff nach und nach vollkommen verlieren; in diesem Verhalten stimmt es mit den übrigen Serumqualitäten²⁾ überein (siehe Versuchsprotokoll 20; Nebenversuch 1 und VP. 26).

1) Auf Grund zahlreicher Beobachtungen machte ich die Erfahrung, daß bei wochen- bis monatelangem Lagern alter Rindersera die Konglutinine sich in der Originalflasche mit den Blutkuchen zusammen viel länger und kräftiger erhalten, als in Eprouvetten abgefüllt. Dem Blutkuchen kommt augenscheinlich eine die Konglutinine konservierende Bedeutung zu.

2) Vgl. Tetsudo Ito: „Ueber die Konzentration der Serumqualitäten durch Gefrieren etc.“ Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 15, S. 97—116.

Wählt man lange Röhren, in welche man konglutininhaltiges Rinderserum eingießt, und läßt den Inhalt wiederholte Male gefrieren und wiederauftauen, so bilden sich allmählich in der Flüssigkeits- resp. Eissäule drei deutliche Schichten aus, von denen die oberste wasserklar, die mittlere leicht gefärbt, die unterste intensiv gefärbt erscheint. Das ganze Konglutinin ist nun in der untersten Schicht konzentriert. Von diesen reichen sehr geringe Mengen hin, um das Phänomen der Konglutination auszulösen. Außerdem kommt dieser Flüssigkeit eine Hämolyse hemmende Wirkung gegen das Alexin zu (vgl. VP. 26).

Das Konglutinin läßt sich in Frigo lange konservieren, wobei auch Fäulnis des Serums dasselbe wochenlang nicht zerstört (siehe VP. 12, 13)¹⁾.

Röntgenstrahlen bis 15 Minuten lang einwirkend, lassen das Konglutinin unbeeinflußt.

Ich verteilte das konglutininhaltige Rinderserum auf 3 Ampullen. Ampulle I setzte ich 15 Minuten, Ampulle II 5 Minuten den Röntgenstrahlen aus. Ampulle III, welche als Kontrolle diente, machte mit Ausnahme der Bestrahlung alle übrigen Manipulationen mit (Transport usw.). Die Seren mit den 3 Ampullen hatten im Versuche ungefähr gleichen Konglutiningehalt. (Versuchsordnung: Hundealexin, sensibilisierte Hammelblutkörperchen.)

Eintrocknen inaktivierten Rinderserums in dünnen Schichten schädigt nach Hall²⁾ in keiner Weise die konglutinierenden Eigenschaften.

Auffallend ist das Verhalten des Konglutinins zur Filtration mittels Berkefeldfilter (Hall). Schickt man schon vorher inaktiviertes Rinderserum hindurch, so wird der größte Teil des Konglutinins vom Filter zurückgehalten. Filtriert man jedoch frisches Rinderserum und erhitzt dann $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° C, so ergibt sich, daß das Konglutinin anscheinend ungeschädigt das Filter passiert hat. - Meine diesbezüglichen Versuche erstrecken sich nur auf das Verhalten nativen

1) Ich hielt die Rindersera stets mitsamt dem Blutkuchen in Flaschen bei etwa 5–10° C, wobei ich die zum Versuche nötige Serummenge im Bedarfsfalle abpipettierte. So hielten sich die Sera in der Regel 2–3 Wochen ziemlich frei vom hämolytischen Farbenton.

2) Ivan Hall, Studies on conglutination. Univ. of Calif. Publication in Pathol., Vol. II, 1913, p. 111.

Rinderserums zur Filtration (VP. 38). Hierbei fand ich die Angabe¹⁾ bestätigt, daß das Komplement durch den Filtrationsprozeß sehr leidet, daß daher infolge des Alexinmangels die konglutinierenden Eigenschaften des filtrierten Serums im Vergleich zum unfiltrierten scheinbar stark herabgesetzt sind. Läßt man jedoch filtriertes und unfiltriertes Serum nach längerem Lagern mit Alexin (z. B. mit frischem Hundeserum) sich sättigen, so verschwindet der Unterschied völlig.

Das Konglutinin zeigt bekanntlich keinerlei Spezifität und unterscheidet sich dadurch deutlich von den Agglutininen, welche auf jede Blutkörperchenart spezifisch abgestimmt sind (VP. 44, 2).

Das Konglutinin fixiert sich an die verschiedenartigsten sensibilisierten und alexinierten Blutkörperchen, sowohl von Säugetieren, als auch von Vögeln usw., wenn auch nicht mit derselben Avidität. (Ueber Ausnahmen vgl. Kap. III.)

Betreffs der übrigen von mir nicht überprüften Eigenschaften des Konglutinins vgl. die Arbeiten von Streng²⁾, Barikine³⁾, Gengou⁴⁾ und Leschly⁵⁾.

II. Die alexinierenden Eigenschaften verschiedener Seren und ihre Brauchbarkeit zur Auslösung des Konglutinationsphänomens.

Die Wahl eines passenden komplettierenden Serums hat für das Gelingen der Konglutinationsreaktion eine große Bedeutung.

1) H. Sachs, „Hämolysine des Blutserums“ in Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 2. Aufl., Bd. 2, S. 871.

2) Oswald Streng, a) Studien über das Verhalten des Rinderserums gegenüber den Mikroben. Centralbl. f. Bakt., Abt. I. Orig., Bd. 50, 1909, S. 47. b) Existieren echte Antialexine? Zeitschr. f. Immunitätsforsch. c) Agglutinin oder Konglutinin? Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 52, 1909, S. 523–531.

3) Barikine, a) Contribution à l'étude sur la congutination du précipité spécifique. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 56, 1910, S. 150. b) Reakzya konglutinizii. Aus Medizinskaja Mikrobiologia, T. 1, p. 234–236. (Russisch.)

4) Gengou, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, S. 725.

5) W. Leschly, Versuche über Konglutination. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 25, 1916, S. 219–247.

Alexin muß in entsprechender Menge im Systeme vorhanden sein. Hierbei gilt als Regel, daß man stets die kleinste Komplementdosis wähle, welche eben noch volle Wirkung ausübt. Großen Ueberschuß an Komplement anzuwenden, empfiehlt sich nicht, da hierbei die hämolysierende, resp. hämagglutinierende Komponente des fremden Serums zu sehr in den Vordergrund tritt. Die Wahl der optimalen Quantität des Komplementes hängt von den diesbezüglichen Vorversuchen ab.

In diesen Vorversuchen hat man festzustellen, wie sich das komplettierende Serum allein gegenüber dem zu wählenden Indikator verhält. Hierbei ist es unerläßlich, Reihenversuche aufzustellen, in welchen man ansteigende Dosen des zu untersuchenden komplettierenden Serums auf eine stets gleichbleibende Quantität des Indikators (3mal in physiologischer Kochsalzlösung gewaschene Erythrozyten) einwirken läßt¹⁾. Wenn man diejenige Serummenge, welche eben noch nach 2 Stunden totale Hämolyse des Indikators bewirkt, als Einheit betrachtet, so sehe ich als Optimum der für Konglutinationsreaktion zu wählenden Alexindosis diejenige an, welche beiläufig $\frac{4}{5}$ dieser Einheit ausmacht. Löst beispielsweise Hundesrum in der Dosis 0,06 ccm die Hammelblutkörperchen im Brutschranke eben noch nach 2 Stunden auf, so empfiehlt es sich, für den Hauptversuch etwa die Dosis 0,05 ccm des Hundeserums zu wählen.

Bei Anwendung von nativen Erythrozyten genügt in der Regel diese Versuchsreihe; anders stehen die Verhältnisse, wenn sensibilisierte Erythrozyten in Anwendung kommen sollen. Der Grad der Sensibilisierung spielt eine wichtige Rolle. Viele Sera agglutinieren nämlich beträchtlich die stark sensibilisierten Erythrozyten (VP. 16, 20, 25, 35, 40). Aus dieser Tatsache ergibt sich die Notwendigkeit eines weiteren Vorversuches: Die im ersten Vorversuche gefundene Dosis optima wird nun gegenüber verschieden stark sensibilisierten Blutkörperchen auf ihre agglutinierende Wirkung geprüft. Wenn man nun diejenige Ambozeptorverdünnung, welche mit Hilfe der optimalen Dosis des Komplen-

1) Die folgende Beschreibung gilt im wesentlichen für das Hundeserum.

tes eben noch nach 2 Stunden im Brutschranke die Blutkörperchen zu spurweiser Agglutination bringt, als Einheit ansieht, so empfehle ich für den Hauptversuch die $1\frac{1}{2}$ - bis 2fache Verdünnung dieser Ambozeptordosis.

Zum Beispiel: 0,05 ccm Hundeserum bewirkt gegenüber sensibilisierten Hammelerythrozyten plus ihrem spezifischen Ambozeptor in der Verdünnung 1:200 noch merkliche, bei Anwendung der Ambozeptorverdünnung 1:300 spurweise, bei 1:500 keine Hämagglutination. Die Ambozeptoreinheit ist also in diesem Falle etwa 1:400; daraus ergibt sich für den Hauptversuch als Dosis optima des Ambozeptors etwa 1:600—1:700.

Die Komplemente sind in ihrer Wirkung außerordentlich verschieden. Um individuellen Schwankungen vorzubeugen, wurden stets die Sera von mehreren gesunden Tieren gemischt. Das Blut wurde stets zu einer bestimmten Tageszeit entnommen (Abhängigkeit der Serumbeschaffenheit von der Fütterung!).

Die Eigenschaften der Komplemente sind bei verschiedenen Tierarten äußerst verschieden. Es gibt Tiersera, welche gegen bestimmte Erythrozyten nur in verhältnismäßig großen Dosen merkliche Wirkung in Form von Hämagglutination oder Hämolyse hervorrufen, wie z. B. das Pferde- oder Kaninchenserum gegenüber den sensibilisierten Hammelerythrozyten (schwache Komplemente). Bei anderen Seren genügt schon eine relativ sehr kleine Quantität, um die Phänomene der Hämolyse, resp. Hämagglutination zur Anschauung zu bringen, wie z. B. das Hunde- oder Meerschweinchenserum gegenüber den sensibilisierten Hammelerythrozyten (starke Komplemente).

Die Hämagglutination durch das komplettierende Serum ist für die Konglutinationsreaktion ein äußerst störender Faktor. Sie kann zu Trugschlüssen führen und im Systeme ein völlig konglutininloses Rinderserum konglutininhaltig erscheinen lassen.

Es erscheint daher notwendig, uns die Unterschiede zwischen Hämagglutination und echter Konglutination vor Augen zu halten. Wir wollen hier nicht auf alle Verschiedenheiten¹⁾ eingehen, sondern bloß auf die während der Aus-

1) Cf. Streng, a. a. O.

führung des Versuches in die Augen fallenden Unterscheidungsmerkmale hinweisen.

Die Konglutination tritt rascher ein; sie ist nach einigen Minuten bereits wahrnehmbar, nach einigen 10 Minuten in der Regel schon vollendet. Ist nach 1stündigem Aufenthalte des Systems im Thermostaten noch keine Konglutination der sensibilisierten und alexinierten Blutkörperchen eingetreten, so steht fest, daß im Rinderserum entweder kein Konglutinin vorhanden ist, oder daß dasselbe nicht zur Gelung kommen kann. Anders die Hämagglutination. Sie beginnt frühestens nach etwa einer halben Stunde¹⁾, entwickelt sich sehr allmählich und erreicht erst nach Stunden (beim Pferdeserum am Morgen des nächsten Tages!) ihre volle Ausbildung. Die von beiden Phänomenen hervorgerufene Zusammenklumpung der Erythrozyten vollzieht sich ebenfalls verschieden. Die Hämagglutination merkt man zuerst daran, daß in der Flüssigkeit Körnchen auftreten, welche sich, allmählich größer werdend, auf den Röhrchenboden herabsenken und sich dort in Form von Klümpchen völlig lose absetzen. Nach mehrmaligem Aufschütteln und neuerlichem Absetzen bildet sich endlich ein körniger Klumpen, welcher stärkerem Schütteln gegenüber in der Regel wenig widerstandsfähig ist, und sich leicht zu einem körnigen Detritus zerschlagen läßt, wonach das Röhrchen lange trübe bleibt.

Ganz anders, wenn im Systeme echtes Konglutinin seine Wirkung entfaltet. Die Rinderkolloid enthaltenden Röhrchen hellen sich bald nach Zufügen der Erythrozyten auf. Die Wände des Röhrchens beschlagen sich mit einem erst feinen, später dicker werdenden häutchenartigen Belag. Dieser Belag klebt fest und läßt sich bisweilen selbst nach dem stärksten Schütteln nur teilweise in Fetzen von der Wand abschlagen, während der Rest in Streifenform an den Wänden haften bleibt. Die aufgewirbelten Fetzen vereinigen sich während des Schwebens in der Flüssigkeit zu Klumpen. Nach mehrmaligem Aufschütteln hat sich dann spätestens eine Stunde nach Hinzufügen der Blutkörperchen ein fester,

1) Eine Ausnahme bildet die Hämagglutination durch das spezifische Immunserum bei hoher Ambozeptordosis (Protokolle 32 und 37).

gegen Schütteln äußerst widerstandsfähiger Klumpen gebildet, der dann in der Regel seinen Hämoglobinfarbstoff schlierenförmig in die Flüssigkeit auspreßt. Wird ein solcher Klumpen durch maximales Schütteln dennoch zerschlagen, so sedimentieren sich die gebildeten Fetzen sehr rasch und die Flüssigkeit ist spätestens nach einigen Minuten wieder völlig aufgehellt. Schließlich sei noch erwähnt, daß leichtes Schütteln der Röhrchen die Konglutination entschieden fördert, während diese Prozedur auf die Agglutination keinen oder einen nachteiligen Einfluß ausübt.

Die Haltbarkeit der Komplemente ist ebenfalls sehr verschieden. Eines der am wenigsten haltbaren Komplemente ist wohl das Pferdeserum (nach Stranigg höchstens 16—20 Stunden lang brauchbar). Auch das komplementhaltige Rinderserum verliert gegen verschiedene Erythrocythen bald seine Wirkung.

So kann es bereits nach 24 Stunden selbst in den größten Dosen native Hammelerythrozyten häufig nicht mehr zur Zusammenballung bringen. Verhältnismäßig lange ist das Komplement im Hundeserum haltbar (etwa 2 Tage), das Meer-schweinchen- und Menschenkomplement etwa einen Tag.

Alle schädlichen Einflüsse, wie Bestrahlung, starkes Schütteln, Filtrieren (Versuchsprotokoll 38), Erwärmen usw. schwächen oder vernichten bekanntlich in verhältnismäßig rascher Zeit das Komplement.

Hingegen war der Aufenthalt des komplettierenden Serums mit dem Rinderserum bei meinen Versuchen von keinen abschwächenden Folgen für ersteres begleitet¹⁾, es erwies sich mir sogar als vorteilhaft, das alexinhaltige Serum mit dem Rinderserum einige Zeit allein beisammen zu lassen (eine Stunde bei Bruttemperatur) und dann erst den nativen oder sensibilisierten Indikator hinzuzufügen.

Als Temperaturoptimum kann für die Reaktion die Bruttemperatur (36—38° C) gelten, doch tritt auch bei Temperaturen wenig über 0° C deutliche und kräftige Konglutination ein, wenn auch nicht so rasch. Dies ist von

1) Im Gegensatz zu den Angaben von Bordet und Streng, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 49.

theoretischem Interesse, da allgemein bei dieser Temperatur das Komplement seine (hämolytische) Wirkung nicht entfalten kann.

Nach den Untersuchungen von Landsteiner und seinen Mitarbeitern werden auch die Hämagglutinine bei niedriger Temperatur gebunden, ja sogar besser als bei höherer; dadurch ist es möglich, durch Digerieren normalen Serums mit Erythrozyten bei 0° C die Hämagglutinine vollständig zu entfernen, ohne die übrigen Serumqualitäten wesentlich abzuschwächen¹⁾. Die Bluttemperatur hemmt demnach die störende Nebenagglutination durch das komplettierende Serum. Hingegen stört hohe Temperatur (über 40° C) wesentlich das Zustandekommen des Konglutinationsphänomen, ja bei längerer Einwirkung desselben wird bereits gebildete Konglutination vernichtet.

Es mag hier eine kurze Charakterisierung der von mir als Komplement angewandten Sera folgen, hervorgehend aus meinen diesbezüglichen Versuchsergebnissen (vergleiche die Protokolle!).

1. Rinderserum. Gewinnung: Aus den großen Halsgefäßen. Haltbarkeit: Verschieden gegenüber den einzelnen Arten der Erythrozyten: Gegen Hammelerythrozyten nur etwa 1 Tag, gegen Menschenerythrozyten etwa 2 bis 4 Tage, gegen Meerschweinchenerythrozyten 3—6 Tage (und länger: vgl. VP. 44, III. Tabelle). Hämagglutination der Säugetiererythrozyten in kleinen Dosen meist unbedeutend und wenig störend, in großen Dosen jedoch merklich, z. B. gegenüber Katzen-, Kaninchen- und Menschenerythrozyten (VP. 19 B; 29 I, 43 u. a.). Vogel- und Amphibienerothrozyten werden stark hämagglutiniert (VP. 31, 45, 39 u. a.). Hämolysen: stark gegenüber Meerschweinchen- und Kaninchenerythrozyten, mittelstark gegenüber Menschen- und Froscherythrozyten, schwach gegenüber Sperlings- und Schweinerythrozyten und fehlend gegenüber den Katzen- und Hundeblutkörperchen, sowie gegenüber den Erythrozyten der von mir untersuchten Wiederkäuer (Hammel, Kamel).

1) Zitiert aus H. Sachs, „Hämolysine“, in Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 2, S. 830. (2. Aufl.)

Individuelle Schwankungen unbedeutend (die Sera der zahlreichen von mir untersuchten Rinder zeichneten sich durch große Konstanz aus). Optimum 0,1—0,5, je nach Alter des Serums und Art der Blutkörperchen. (Zur Komplettierung alten Rinderserums durch frisches Rinderserum genügt 0,05—0,1 ccm des letzteren. Vgl. VP. 44 III.)

2. Menschenserum (VP. 24). Gewinnung: Vena mediana cubiti. Haltbarkeit nicht länger als etwa 24 Stunden. Hämagglutination ziemlich beträchtlich und störend gegenüber Hammel- und Meerschweinchenerythrozyten (Bildung feiner Flöckchen und Körnchen). Hämolysen: Ziemlich beträchtlich gegenüber Hammel- und Kaninchenerythrozyten. Individuelle Schwankungen bedeutend. Optimum 0,05—0,15 ccm.

3. Pferdeserum¹⁾. Gewinnung. Vena jugularis. Haltbarkeit nicht länger als 16 Stunden. Hämagglutination beträchtlich gegenüber den meisten Erythrozytenarten, jedoch erst nach Stunden eintretend, besonders stark gegenüber Menschen-, Hunde-, Katzen- und Sperlingserythrozyten (VP. 40, 41 II, 43₄ u. a.). Die von mir untersuchten Wiederkäuererythrozyten (Hammel, Kamel, Rind) wurden vom Pferdeserum nicht agglutiniert. Hämolysen: Auch bei Anwendung großer Dosen fehlend, sogar gegenüber den meisten stark sensibilisierten Erythrozyten.

4. Meerschweinchen Serum. Gewinnung: Herzpunktion. Haltbarkeit etwa 24 Stunden. Hämagglutination gering. Hämolysen stark, namentlich gegenüber den sensibilisierten Hammelerythrozyten. Individuelle Schwankungen beträchtlich, Dosis optima etwa 0,05 ccm.

5. Kaninchenserum. Im allgemeinen wie Meerschweinchen Serum, nur bedeutend schwächer.

6. Hundeserum. Gewinnung: Aus der Ohrvene von Jagdhunden. Haltbarkeit: Gegen zwei Tage. Hämagglutination. Nur gegenüber sehr stark sensibilisierten Erythrozyten. Hämolysen: Beträchtlich gegenüber Hammel-, Kamel-, Rind-, Kaninchen-, Meerschweinchen- und

1) Vgl. hierzu Stranigg, „Zur Diagnose des Rotzes durch Konglutination“ in Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust., Bd. 14, S. 180—181.

Sperlingserythrozyten; schwach oder fast fehlend gegenüber Pferde-, Menschen-, Schweine- und Katzenerythrozyten. Individuelle Schwankungen unbedeutend. Dosis optima 0,05 ccm.

Aus dieser vergleichenden Zusammenstellung der von mir angewandten alexinhaltigen Sera erweist sich das Hundeserum als das vorteilhafteste: Relative Haltbarkeit, Fehlen hämagglutinierender Eigenschaften, starke Wirkung in kleiner Dosis, geringe individuelle Schwankungen und leichte Beschaffbarkeit machen es für die Anwendung bei der Konglutinationsreaktion am geeignetsten.

III. Die Blutkörperchen des Menschen und verschiedener Tiere als Indikatoren für die Konglutinationsreaktion.

Auf Grund der mir zur Verfügung stehenden Literatur finde ich nur in der Arbeit von Bordet und Streng eine Beschreibung des Verhaltens einiger Blutkörperchen zur Konglutination durch das Rinderserum, und zwar werden dort Meerschweinchen-, Kaninchen-, Ziegen- und Menschenerythrozyten angeführt. Von den Menschenblutkörperchen wird gesagt, daß sie das Phänomen mit großer Deutlichkeit („avec beaucoup de netteté“ Bordet und Streng) zeigen; auf das seltsame Verhalten der Ziegenblutkörperchen, welche sehr energisch konglutiniert, aber nicht hämolysiert werden, wird hingewiesen, wobei auch erwähnt ist, daß dies wahrscheinlich darauf zurückzuführen sei, daß Rind und Ziege nahe verwandte Tiere sind. Auch die Konglutination der Hammelblutkörperchen wurde von einigen Autoren beschrieben (vgl. Stranigg a. a. O.).

Meine Versuche erstrecken sich auf zahlreiche Blutarten, worunter sich auch Vogel- und Kaltblütererythrozyten (Frosch) befinden.

Die Blutkörperchen wurden fast stets in frischem Zustande¹⁾ und immer als 5-proz. Aufschwemmung in 0,85-proz. Kochsalzlösung untersucht. Bei manchen Blutarten (Vogel)

1) Nur die Hammelerythrozyten kamen in vereinzelten Fällen einige Tage in 1-prom. Formalin aufbewahrt in Anwendung; sie erwiesen sich hierbei einige Male bereits als etwas fragil.

machten sich die zahlreichen Leukozyten störend bemerkbar; diese wurden dann nach dem Zentrifugieren durch Abpipetieren entfernt. Die Leukozyten zeigten sich der Konglutination gegenüber unzugänglich, trotzdem die Erythrozyten derselben Blutart stark konglutiniert wurden, wie dies bei Anwendung der Sperlingsblutkörperchen deutlich zu erkennen ist: Die roten Blutkörperchen sind schon lange maximal konglutiniert, das ausgepreßte Hämoglobin färbt die Flüssigkeit bereits lackfarben rot, dennoch bleibt die Flüssigkeit schwach getrübt; die Ursache ist in den schwebenden unversehrten Leukozyten zu suchen.

Die Blutkörperchen wurden stets durch dreimaliges Waschen in 0,85-proz. Kochsalzlösung ¹⁾ vom anhaftenden eigenen Serum befreit, und kamen möglichst bald nach dieser Prozedur zur Verwendung. Es wurde stets eine 5-proz. Aufschwemmung des Zentrifugates hergestellt, welche durch Gaze filtriert wurde, um sie vom evtl. anhaftenden Fibrinfetzen usw. zu befreien. An dieser Stelle muß einer Beobachtung Atkins ²⁾ Erwähnung getan werden, nach welcher Pferdeblutkörperchen, zweimal mit 0,9-proz. NaCl-Lösung gewaschen, und dann in 0,9-proz. NaCl-Lösung zu 1 Proz. aufgeschwemmt, kräftig spontan agglutiniert werden. Auch bei anderen Erythrozyten soll dieses Phänomen vorkommen. In der Tat machte ich einige Male die Beobachtung, daß Kaninchenerythrozyten in 5-proz. Aufschwemmung sich ziemlich stark spontan agglutinierten, doch sah ich niemals diese Spontanagglutination bei anderen Erythrozyten. Die im Versuche ungebraucht gebliebenen Blutkörperchen der 5-proz. Aufschwemmung konnten nach dem Absetzen im Röhrchen stets wieder durch leichtes Schütteln in der Flüssigkeit völlig homogen verteilt werden. Anders verhielten sich die sensibilisierten Erythrozyten. Dieselben agglutinierten nach längerem Zusammensein mit ihrem Ambozeptor häufig nicht unbeträchtlich, doch in der Regel

1) Nach Morgenroth wird für Hunde- und Pferdeblut eine stärkere Salzkonzentration empfohlen (0,95-proz.).

2) E. E. Atkin, Spontaneous agglutination of Horse Erythrocytes suspended in Sodium Chloride solution. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, S. 387—393.

nur dann, wenn die Sensibilisierung eine übermäßig starke war, was ja meist schon durch die Vorversuche ausgeschaltet worden war.

Der Hämagglutination gegenüber sind die verschiedenen Blutkörperchen verschieden empfänglich. Auffallend ist die starke Agglutination der Vogelblutkörperchen gegenüber dem Pferdeserum. Im allgemeinen läßt sich mit Rißling¹⁾ sagen, „daß die Blutkörperchen einer Tierart von einem oder mehreren, bisweilen von allen Seris der übrigen Tierarten agglutiniert werden“. Aus den Zusammenstellungen von Rißling ist weiter ersichtlich, daß die Vogelerythrozyten von den Säugetiersera stark agglutiniert werden. Diese Eigenschaft macht sie für die Konglutinationsreaktion weniger geeignet, obgleich sie das Phänomen der Zusammenklumpung durch das Rinderkolloid sehr deutlich zur Anschauung bringen. Von den untersuchten Säugetierblutkörperchen sind die Kaninchenerythrozyten der Hämagglutination am leichtesten zugänglich (VP. 19 und die Tabellen von Rißling auf S. 547—551).

Da die Hämagglutination für die Konglutinationsreaktion einen störenden Faktor darstellt, so schließt sich eine solche Kombination, bei welcher dank des kompletierenden Serums die als Indikator für die Konglutinationsreaktion dienenden Erythrozyten stark hämagglutiniert werden, von selbst aus (Pferdeserum - Vogelerythrozyten). Von diesem Gesichtspunkte ausgehend, erweisen sich demnach die Kaninchenerythrozyten als ungeeignet. Es ist unsere Aufgabe, solche Erythrozyten ausfindig zu machen, welche von dem kompletierenden Serum nicht, oder nur schwach agglutiniert werden, wie z. B. die Hammelblutkörperchen fast allen gebräuchlichen Komplementen gegen-

1) Rißling, Centralbl. f. Bakt., Bd. 44, Heft 6, S. 551. Die Untersuchungen Rißlings erstreckten sich auf folgende 10 Blutarten: Mensch, Pferd, Schwein, Rind, Schaf, Meerschweinchen, Gans, Huhn, Ente, Taube. In diesen Tabellen sind also nur 2 Wiederkäuererythrozyten vertreten, die vom Schaf und die vom Rind. Die Schaferythrozyten werden nur vom Serum der Gans schwach agglutiniert; die Erythrozyten des Rindes sind allen angewandten Seren gegenüber agglutinationsfest; also auch hier trägt das Rinderblut seine Ausnahmestellung zur Schau!

über. Bei den Menschen- und Meerschweinchenerythrozyten ist schwache Hämagglutination gegenüber den meisten Seren vorhanden, doch ist dieselbe von echter Konglutination sofort leicht zu unterscheiden¹⁾, kommt daher als störender Faktor wohl kaum in Betracht.

Auch der Hämolyse gegenüber verhalten sich die verschiedenen Blutkörperchen je nach den angewandten Seren verschieden. Schon lange bekannt ist die große Empfänglichkeit der Meerschweinchenerythrozyten in bezug auf Hämolyse gegenüber den meisten komplementhaltigen Seren, andererseits werden die Hammelerythrozyten in bezug auf Hämolyse durch Alexine als sehr widerstandsfähig angesehen. Das Hundeserum jedoch hat gerade diesen Erythrozyten gegenüber eine ziemlich starke hämolysierende Kraft. Allzu starke Hämolyse des Indikators durch das Alexin ist nicht vorteilhaft für die Reaktion, welche unter Umständen dadurch dürftig eintritt in Form farbloser Flocken, die sogar unter Umständen übersehen werden können. Andererseits ist das Vorhandensein einer nicht allzu starken hämolysierenden Komponente im komplettierenden Serum gegenüber dem Indikator von Vorteil, da dieser Umstand nach meinen Erfahrungen dem Eintritt der Konglutination förderlich ist.

Der **Konglutination** gegenüber sind die Blutkörperchen ebenfalls je nach Tierart verschieden empfänglich:

Die Zeitdauer, welche vom Zugießen der Erythrozyten bis zum Eintritt der Reaktion (Wahrnehmung des adhären den Häut chens an den Eprouvettenwänden) verstreicht, ist je nach der Blutart eine verschiedene. Besonders früh werden die Meerschweinchenerythrozyten konglutiniert (oft schon nach 5 Minuten), und da allsogleich vollkommene Hämolyse folgt, ist es erklärlich, warum dem Phänomen erst verhältnismäßig so spät Beachtung geschenkt wurde: Die zusammengeballten Meerschweinchenerythrozyten pressen ihr Hämoglobin sogleich in die Flüssigkeit aus, und es resultieren

1) Beschreibung der Unterschiede siehe früher. Ueber die verschiedenen Methoden des Nachweises schwacher Hämagglutination vgl. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 2. Aufl., Bd. 3, S. 40.

nach zu spät erfolgtem Schütteln bloß die völlig farblosen durchscheinenden Stromata, welche, zusammengeballt in Form von Flöckchen in der Flüssigkeit schwebend, der Beobachtung leicht entgehen. Entgegengesetzt in dieser Hinsicht verhalten sich die Hammelblutkörperchen: Bei ihnen tritt die Reaktion verhältnismäßig sehr spät (etwa nach 20 Minuten) ein, doch ist sie viel sinnfälliger; das Konglutinationshäutchen ist dick, äußerst schwer abschlagbar, die Zusammenballung ist infolge der fehlenden Hämolyse¹⁾ viel deutlicher sichtbar, der gebildete Klumpen ist rot und kompakt.

Auch die Menge des Rinderserums, welche für die Konglutinierung der jeweiligen Erythrozyten benötigt wird, ist verschieden. Es gibt Tierarten, deren rote Blutkörperchen gegen die von mir angewandte maximale Rinderserumdosis (0,5 ccm) völlig immun sind, so die Hunde (VP. 9 B. 31 II) und Wolfserythrozyten (VP. 46). Auch die Blutkörperchen der Katze (VP. 43) und des Schweines (VP. 31 IV) sind der Konglutinierung gegenüber sehr widerstandsfähig. Dies verdient um so mehr Beachtung, als es sich um Karnivoren (Hund, Wolf, Katze) und einen Omnivoren (Schwein) handelt, Tiere, welche unter den von mir untersuchten allein befähigt sind, frisches Rinderblut und rohes Rinderfleisch zu verdauen. Die übrigen von mir untersuchten Tiere (Wiederkäuer, Einhufer, Nagetiere, Vögel und Amphibien) hatten Erythrozyten, welche alle der Konglutination durch das Rinderserum selbst bei Anwendung der kleinsten Serumdosis (0,1 ccm) unterworfen waren. Ob es sich hier um eine Regel oder um einen zufälligen Befund handelt, das zu ergründen behalte ich mir vor, bis es mir möglich sein wird, über die Untersuchung zahlreicher anderer Erythrozytenarten, worunter sich solche obligater Karnivoren befinden müßten, zu berichten.

Wie zu erwarten, sind die sensibilisierten Erythrozyten der Konglutination noch bedeutend zugänglicher. Dies ist besonders auffällig bei Anwendung alter Rindersera, welche, mit Hundeserum komplettiert, auf Hammelerythrozyten ein-

1) Bei Anwendung von nativem komplementhaltigen Rinderserum bleibt die Hämolyse aus.

wirken (VP. 12 u. 13). Sind diese Erythrozyten nativ, so werden sie wohl hämolysiert, doch tritt die Reaktion der Konglutination nur schwach und bloß bei Anwendung großer Serumdosen ein; sind diese Erythrozyten aber vorher sensibilisiert, so werden sie rasch und maximal auch von 0,1 ccm Rinderserum konglutiniert. Sensibilisierte Meerschweinchenerythrozyten anzuwenden wird bei Laboratoriumsversuchen wohl nur selten notwendig sein, da native Meerschweinchenblutkörperchen selbst durch 8 Tage altes Rinderserum, das nur mehr sehr geringe Mengen von Komplement enthält, sogar ohne Zuhilfenahme von fremdem Komplement noch deutlich konglutiniert werden (VP. 44 III u. a.).

Osv. Streng¹⁾ fordert eine vorherige Sensibilisierung und Alexinierung der Blutkörperchen: Erst dann können nach diesem Autor die Blutkörperchen vom Konglutinin angegriffen werden. Diese Voraussetzung war auch zum Teil der Grund, warum Streng stets das Pferdeserum, das imstande ist, zu alexinieren, ohne dabei die Blutkörperchen durch Hämolyse zu zerstören, in Anwendung brachte. Auf Grund meiner Untersuchungen kommt bloß der vorherigen Sensibilisierung eine wesentliche Bedeutung zu. Das Alexin ließ ich stets vorher mit dem komplementarmen oder -losen Rinderserum längere Zeit beisammen, um das Konglutinin mit Alexin zu sättigen, damit es befähigt werde, sich allso gleich auf die zugefügten nativen oder sensibilisierten Blutkörperchen zu stürzen. Die Schnelligkeit des Reaktionseintrittes steht bei Anwendung dieser Versuchsanordnung der von Streng keineswegs nach.

Von wesentlichem Einflusse ist das zeitweilige Schütteln der Röhrchen. Namentlich das rechtzeitige Abklopfen des Wandbeschlages ist vonnöten, da derselbe schließlich bisweilen so fest adhärirt, daß selbst das stärkste Schütteln ihn nicht gänzlich loszuschlagen vermag. Dieser Umstand verhindert nicht selten die Bildung des so charakteristischen großen scheibenförmigen Klumpens („Conglutinatio maxima“, vgl. die Protokolle!).

Infolge der nicht untergeordneten Rolle, welche mecha-

1) Osv. Streng, a. a. O.

nische Beeinflussung auf das Reaktionsphänomen ausübt, ist es notwendig, alle koordinierten Röhrchen völlig gleichmäßig und möglichst gleichzeitig der gleichen mechanischen Prozedur auszusetzen. Dies gilt namentlich bei Reihenversuchen, wie bei Untersuchungen fraglicher Rindersera auf ihren Konglutiningehalt im Verein mit normalem konglutininhaltigen Kontrollserum.

Bei einiger Uebung läßt sich aus der charakteristischen Form des gebildeten Klumpens auf die Blutkörperchen, denen er entstammt, schließen. Jede Blutart weist in bezug auf das adhärierende Häutchen, das Aussehen der Flocken, den resultierenden Klumpen ihre bestimmten Eigenheiten auf, und so ließen sich leicht mit Hilfe der Konglutination bestimmte Blutkörperchen differenzieren.

Es mag hier eine Charakteristik der von mir verwendeten Blutkörperchen mit besonderer Rücksicht auf ihre Konglutination durch das Rinderserum folgen:

1. Rinderblutkörperchen. Wie früher bemerkt, zeichnen sich diese Blutkörperchen vor allem dadurch aus, daß sie sich durch keines der zur Untersuchung gekommenen Sera¹⁾ agglutinieren ließen. Der Isohämolyse und Isoagglutination scheinen diese Erythrozyten auf Grund meiner spärlichen Untersuchungen (VP. 11, 14, 20 No. II, III) nicht ausgesetzt zu sein. Der Hämolyse gegenüber sind die Rinderblutkörperchen ebenfalls unzugänglich oder wenigstens äußerst widerstandsfähig. (Nach Rißling lösen nur Schweine-, Gans- und Entenserum die Rindererythrozyten und dies auch nur spurweise bei Anwendung sehr großer Serummengen.

2. Menschenerythrozyten. Ihre besondere Brauchbarkeit zur Konglutination wurde schon von Bordet und Streng erkannt, obwohl diese Blutkörperchen durch die meisten Sera merklich hämagglutiniert werden. Diese Hämagglutination macht sich bei den größeren Dosen des Rinderserums einigermaßen störend bemerkbar. Der Hämolyse gegenüber sind diese Blutkörperchen wenig zugänglich. Von den gebräuchlichen Serumarten ist das Rinderserum das ein-

1) Vgl. Rißling, a. a. O., und VP. 33.

zige, welches in einer Dosis von 0,1 ccm die Menschenerythrozyten (0,5 ccm in 5-proz. Aufschwemmung) zu hämolysieren vermag. Dem Hundeserum gegenüber sind diese Erythrozyten fast völlig unempfindlich. Die Konglutination der Menschenblutkörperchen vollzieht sich sehr sinnfällig. Bei Anwendung frischen, normalen Rinderserums bemerkt man nach etwa 15 Minuten starke Aufhellung der Flüssigkeit; die Wände sind mit einem Häutchen beschlagen, nach dessen Abschütteln sich ziemlich rasch ein einziger, intensiv rot gefärbter Klumpen bildet, der dann etwa nach einer Stunde allmählich seinen roten Farbstoff in die Flüssigkeit in Form von Schlieren auspreßt. Nach 2 Stunden haben alle Röhrchen starke hämolytische Tönung erhalten.

3. Pferdeblutkörperchen. Starke Agglutination durch das Rinderserum; ihre Fragilität (Optimum: 0,95-proz. physiologische Kochsalzlösung), ihre leichte spontane Annlutination¹⁾ machen sie als Indikatoren für die Konglutinationsreaktion wenig empfehlenswert.

4. Kamelerythrozyten sind nach meinen Untersuchungen sehr geeignet (VP. 33); sie werden vom Rinderserum nicht merklich agglutiniert, wohl aber sehr lebhaft konglutiniert. Hämolyse derselben tritt nicht ein.

5. Die Hammelerythrozyten verhalten sich ähnlich den Kamelerythrozyten, nur sind sie der Konglutination gegenüber widerstandsfähiger. Selbst vollkommen frische normale Rindersera können sie nur in verhältnismäßig größeren Dosen — über 0,1 ccm — und dies erst etwa nach einer halben Stunde, zur Konglutination bringen; dafür vollzieht sich unter Anwendung der großen Serumdosen (0,3, 0,5 ccm) die Zusammenklumpung äußerst derb und sinnfällig. Auf ihre Unempfindlichkeit gegenüber der Hämolyse haben wir schon hingewiesen. (Bordet und Streng betonen das völlige Fehlen der Hämolyse der nahe verwandten Ziegenerythrozyten durch das Rinderserum.) Ist das Rinderserum über einen Tag alt, so verliert es gewöhnlich rasch die Fähigkeit, selbst in großen Dosen diese Blutkörperchen zu konglutinieren. Anders verhalten sich die sensibilisierten

1) Atkin, a. a. O.

Hammelerythrozyten. Sie sind sowohl der Hämolyse, als auch der Konglutination leicht zugänglich. Der Agglutination gegenüber anderen Seren sind die nativen Hammelblutkörperchen fast völlig unempfindlich. Stark sensibilisierte Hammelerythrozyten (über 6fache Ambozeptordosis, vgl. VP. 16 u. a.) werden durch Hundeserum merklich agglutiniert und dadurch teilweise gegen völlige Hämolyse durch dasselbe geschützt; dieser Schutz schwindet bei starker Verdünnung des Ambozeptors. Hämolysiert werden hingegen die Hammelblutkörperchen durch einige Serumarten ziemlich kräftig (z. B. Schweine-, Kaninchen-, Hundeserum!). 0,05 ccm Hundeserum löst 0,5 ccm einer 5-proz. Hammelerythrozytenaufschwemmung gewöhnlich prompt nach 2 Stunden.

6. Die Schweineerythrozyten sind der Konglutination gegenüber sehr widerstandsfähig, daher ungeeignet. Vom Rinderserum werden sie in der Dosis 0,5 ccm weder hämolysiert noch merklich agglutiniert.

7. Die Hundeerythrozyten sind gegen die konglutinierende und hämolysierende Wirkung durch das Rinderserum völlig oder fast völlig immun, dagegen werden sie vom Rinderserum schwach agglutiniert.

8. Die Wolferythrozyten. Sie wurden vom Rinderserum weder agglutiniert noch konglutiniert. Keine Hämolyse. (VP. 46.) Sie sind ungeeignet¹⁾.

9. Die Katzenerythrozyten werden nur von der größten Dosis (0,5 ccm) des Rinderserums deutlich konglutiniert, aber auch nicht in Spuren hämolysiert. Da sie außerdem der Hämagglutination durch das Rinderserum ziemlich zugänglich sind, ist von ihrer Anwendung abzuraten.

10. Die Meerschweinchenerythrozyten sind der Konglutination am zugänglichsten. Selbst die kleinste angewandte Rinderserumdosis (0,1 ccm) genügt stets, um sie maximal zusammenzuballen. Starke Hämolyse durch fast

1) Bei meinen Versuchen, in denen ich als Indikatoren Hundeerythrozyten anwandte, trat die Hämagglutination viel deutlicher und typischer in den Rinderpestserumröhrchen ein, während sie in den Röhrchen mit dem normalen Rinderserum nur dürrig eintrat (siehe VP. 41 u. a.). Ob es sich hier um eine Regel oder um einen Zufall handelt, lasse ich dahingestellt.

alle gebräuchlichen Sera (mit Ausnahme des Pferdeserums). Hämagglutination sehr geringen Grades durch Rinder-, Pferde- und Hundeserum.

11. Die Kaninchenerythrozyten werden vom Rinderserum stark hämagglutiniert, sind also schon aus diesem Grunde ungeeignet. Außerdem wurde einige Male spontane Agglutination dieser Erythrozyten beobachtet. Der Konglutination gegenüber sind sie übrigens fast ebenso leicht zugänglich, wie die Meerschweinchenerythrozyten. Starke Hämolyse, namentlich durch Rinderserum.

12. Die Sperlingserythrozyten. Starke typische Konglutination, aber auch starke, spät eintretende Hämagglutination, welche namentlich nach längerem Stehen der Röhrchen die Beurteilung der Reaktion störend beeinflusst. Diese Blutkörperchen werden vom Hundeserum in kleinen Dosen stark, vom Rinderserum nur in größeren Dosen schwach hämolysiert (VP. 31, 33, 34, 36 und 40 im Original).

13. Die Entenerythrozyten sind von allen von mir untersuchten Erythrozyten am stärksten der Hämagglutination durch das Rinderserum unterworfen, und deshalb für die Konglutinationsreaktion völlig unbrauchbar. Hämolysiert werden sie vom Rinderserum nicht oder nur unbedeutend (VP. 45).

14. Die Froscherythrozyten werden durch das Rinderserum stark konglutiniert, die gebildeten Klumpen zeichnen sich dadurch aus, daß sie sehr energisch das Hämoglobin in die Flüssigkeit auspressen. Der aus ihnen resultierende derbe farblose Klumpen, bestehend aus den zusammengeballten Stromata, ist recht charakteristisch. Störend jedoch ist die nach längerem Stehen erfolgende oft recht starke Hämagglutination.

IV. Ueber den Konglutiningehalt im Serum gesunder und kranker Rinder.

Meine Untersuchungen erstrecken sich hauptsächlich auf die Rinderpest. Gewöhnlich unterzog ich der Reaktion zwei gleichzeitig entnommene Rindersera, von denen das eine einem gesunden unbehandelten oder fieberfreien gesunden

pestimmunisierten Tiere, das andere einem rinderpestkranken Tiere angehörte.

Auf der Tschitaer Rinderpeststation werden die mit dem Pestvirus infizierten Tiere am 4.—5. Tage nach Beginn des Fiebers, bzw. am 7.—8. Tage nach der Injektion des Infektionsstoffes, also 1—2 Tage vor dem zu erwartenden Exitus aus den Halsgefäßen entblutet. Diesen Zeitpunkt benutzte ich zur Gewinnung der Pestsera. Demnach kam meist das aus der Carotis entströmte Blut zur Untersuchung. Als Kontrolle wurde entweder normales Rinderserum, häufiger — aus praktischen Gründen — das Serum pestimmuner Rinder verwendet, da auf der Station der Aderlaß der immunen Tiere mit dem Entbluten des pestkranken Rindes in der Regel zeitlich zusammenfiel. Das so erhaltene Serum-paar wurde in der Folge vollkommen gleich behandelt und gleichzeitig untersucht.

Die Ergebnisse meiner zahlreichen Untersuchungen sind nun folgende:

Das Serum des rinderpestkranken Tieres steht in bezug auf seinen Komplementgehalt dem des gesunden Rindes nicht nach. Die Hämolyse wird durch das Pestserum meist ebenso stark hervorgerufen, wie durch das normale Serum, ja bisweilen übertrifft sogar das Pestserum an hämolytischen Fähigkeiten das Kontrollserum (VP. 21 u. a.). Wie Versuch 44 III zeigt, eignet sich Rinderpestserum sogar recht gut zur Komplettierung alten Immunserums, und zwar genügen verhältnismäßig kleine Dosen desselben (zu meinen Versuchen wendete ich 0,1 ccm des Rinderpestserums an).

Auch der Gehalt an Hämagglutininen ist in beiden Seris ungefähr gleich, was aber das Rinderpestserum so sinnfällig vom normalen und Immunserum unterscheidet, ist der völlige Mangel an Konglutinin auf der Höhe der Krankheit.

Das Schwinden dieses Serumbestandteiles beginnt frühzeitig, schon in den ersten Krankheitstagen (siehe VP. 27). Bald nach Beginn des Fiebers vermindern sich rasch die Konglutinine, um auf der Höhe der Krankheit, also 2—3 Tage vor dem Exitus, vollkommen aus dem Blute geschwunden zu sein.

Durch diese Beobachtung veranlaßt, untersuchte ich Rindersera, welche Tieren entstammten, die anderen Krankheiten unterworfen waren.

In der Literatur fand ich nur bei Streng¹⁾ eine diesbezügliche Bemerkung. Dieser Autor, welcher bei seinen Versuchen fast ausschließlich inaktiviertes Rinderserum verwendete, als Indikatoren stets eine Bakterienaufschwemmung benützte, weist auf die bei Rindertuberkulose von ihm öfters bemerkte Schwäche des Konglutinins und Alexins hin.

Des weiteren machte Streng auf das Kälberserum aufmerksam, welches kleinere Mengen von Konglutinin enthalten sollte. Die von mir untersuchten Kälbersera standen an Konglutiningehalt denen erwachsener Tiere kaum nach (vgl. VP. 4, 6, 42). Weiter ergaben meine Untersuchungen, daß der Konglutiningehalt beim gesunden Tiere eine ziemlich konstante Größe ist, unabhängig vom Alter und von der Rasse des Tieres²⁾).

Meine ersten Untersuchungen über den Konglutiningehalt im Serum anderweitig erkrankter Rinder beziehen sich auf einen Fall von Maul- und Klauenseuche in der Rekonvaleszenz (leichte Erkrankung, vgl. VP. 21). Hier stellte sich heraus, daß das von der Maul- und Klauenseuche genesene Tier in bezug auf seinen Konglutiningehalt im Serum normalen Rindern in keinem Falle nachsteht.

Des weiteren untersuchte ich ein vakzimierte Kalb. Das Blut wurde auf der Höhe des Krankheitsprozesses entnommen; das Tier fieberte zur Zeit der Blutentnahme den 5. Tag und war stark heruntergekommen (Temperatur 40° C). Auch hier wurde bei intakt bleibendem Komplement völliger Schwund der Konglutinine beobachtet. Das Serum dieses vakzimierte Kalbes verhielt sich demnach dem Rinderpestserum gleich (VP. 29).

Schon aus dieser einen Untersuchung ging hervor, daß der Konglutininschwund für die Rinderpest nicht spezifisch ist.

1) „Studien über das Verhalten des Rinderserums gegenüber den Mikroben.“ Centralbl. f. Bakt., Bd. 50, S. 70.

2) Im Gegensatz dazu macht Streng auf ziemlich große Variationen der Alexine und Konglutinine bei verschiedenen Tieren aufmerksam.

Weiter stellte ich Studien über das Schwanken im Konglutiningehalte peripneumoniekranke Rinder an (VP. 31). Es handelte sich hier um zwei zum Zwecke von Serumgewinnung künstlich infizierte Rinder.

Auch hier resultierte in beiden Fällen auf der Höhe des Krankheitsprozesses völliges Schwinden der Konglutinine bei Erhaltung des Komplementes.

Eines der beiden erkrankten Rinder genas, von ihm wurde am Tage der definitiven Entfieberung abermals Blut genommen und untersucht. Hierbei stellte sich heraus, daß die Konglutinine im Blute sich wieder vollkommen regeneriert hatten. Der Konglutiningehalt des eben entfieberten Tieres war gleich dem des gesunden Kontrolltieres.

Um zu ergründen, ob bloß das Fieber die Ursache des Konglutininschwundes sei, trachtete ich noch die Serumbeschaffenheit bei einem fieberlosen, zur Inanition führenden Erkrankung zu untersuchen. Gelegenheit hierzu bot sich in einem Falle chronischer Dysenterie. Es handelte sich um ein etwa 2 Monate altes Kalb, welches ca. 4 Wochen lang an Durchfällen litt. Zur Zeit der Blutentnahme war das Tier äußerst herabgekommen; der Tod erfolgte auch unter völliger Erschöpfung 4 Tage nach der Blutentnahme. Als Kontrolle diente ein gleichaltes gesundes Kalb, das bei der Untersuchung völlig normalen Konglutiningehalt aufwies. Auch in diesem Falle zeigte sich bei gut erhaltenem Komplement totaler Schwund der Konglutinine (VP. 42).

Vorwort zu den Versuchsprotokollen.

Die in chronologischer Ordnung vorliegenden Versuchsprotokolle wurden ausnahmslos im Laboratorium während des Versuches angefertigt. Wegen Raummangels bin ich verhindert, dieselben in ihrer originalen Fassung hier wiederzugeben. Interessenten stehen dieselben im Manuskript zur Verfügung¹⁾.

Um die erfolgte Reaktion zu beschreiben, brachte ich folgende Skala in Anwendung:

A bedeutet thermostabile Hämagglutination.

C²⁾ bedeutet echte Konglutination.

H bedeutet Hämolysen.

1) Serotherapeutisches Institut, Wien.

2) Nur dann, wenn es zur Bildung des typischen adhärenenden Häutchens kam, wurde echte Konglutination zugegeben.

- A++++ maximale Hämagglutination; die Blutkörperchen sind zu einem einzigen Klumpen zusammengeballt, die Flüssigkeit ist klar.
- A+++ starke Hämagglutination; der größte Teil der Blutkörperchen liegt zusammengeballt am Boden, ein kleinerer Teil schwebt in der Flüssigkeit, welche leicht homogen getrübt erscheint.
- A++ größere Brocken zusammengeballter Erythrozyten schweben in der Flüssigkeit, welche durch nicht agglutinierte Blutkörperchen im übrigen gleichmäßig getrübt erscheint.
- A+ feine Körnchen wahrnehmbar; die Flüssigkeit homogen getrübt.
- A± makroskopisch kaum wahrnehmbare Hämagglutination.
- A— keine Hämagglutination wahrnehmbar.
- C++++ „Conglutinatio maxima“. Die Flüssigkeit völlig klar. Die Blutkörperchen sind zu einem einzigen Klumpen zusammengeballt, welcher dem stärksten Schütteln gegenüber lange Widerstand leistet.
- C+++ die Flüssigkeit ist noch leicht getrübt; im übrigen sind die Flocken zu einem soliden Klumpen vereinigt.
- C++ große Flocken schweben in der Flüssigkeit, welche sich rasch aufzuhellen beginnt.
- C+ feine Flöckchen, wie sie z. B. stets wahrnehmbar sind nach dem Abschlagen eines eben gebildeten Konglutinationshäutchens.
- C± fragliche Konglutination, Flüssigkeit homogen getrübt.
- C— keine Konglutination.
- H++++ totale Hämolyse; die Flüssigkeit ist völlig klar; der eventuell vorhandene Konglutinationsklumpen hat all sein Hämoglobin in die Flüssigkeit ausgepreßt und ist vollkommen farblos und durchscheinend geworden, da er bloß aus den zusammengeballten Stromata besteht.
- H+++ Spur Trübung, das Fensterkreuz ist deutlich sichtbar resp. Flüssigkeit klar, der Konglutinationsklumpen hat nicht all sein Hämoglobin in die Flüssigkeit ausgepreßt.
- H++ beträchtliche Trübung, Fensterkreuz durchscheinend oder Flüssigkeit klar, durch das vom Konglutinationsklumpen ausgepreßte Hämoglobin merklich gerötet.
- H+ schwache Hämolyse in der homogen getrühten Flüssigkeit resp. leichter rötlicher Farbenton in der klaren, oberhalb des Konglutinationsklumpens gelegenen Flüssigkeitsschicht.
- H± kaum merkliche Hämolyse.
- H— keine Hämolyse.
- p = Serum des pestkranken Rindes,
 k = Serum des anderweitig erkrankten Rindes,
 g = Serum des gesunden Rindes,
 i = Serum vom pestimmunisierten Rind.

Ueber die von mir angewandte Technik habe ich noch folgendes ergänzend vorzuschicken:

Die Ingredienzien wurden ausnahmslos mit frisch bereiteter, physiologischer (0,85-proz.) NaCl-Lösung verdünnt. Die alexinierenden Sera und

die Blutkörperchen kamen in möglichst frischem Zustande zur Anwendung. Die komplettierenden Sera wurden erst unmittelbar vor der Anwendung mit physiologischer Kochsalzlösung so verdünnt, daß 0,5 ccm der Verdünnung die Dosis optima enthielt. Die Blutkörperchen wurden 3mal gewaschen, die oben befindliche Flüssigkeit möglichst vollständig abgesogen, die Pipette in die Tiefe des Sedimentes getaucht, die nötige Menge aufgezogen und mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1:19 verdünnt.

Die Röhrchen enthielten alle schließlich ausnahmslos 25 ccm Flüssigkeit. Die Reaktion ging im Thermostaten bei einer Temperatur von 35 bis 38 ° C vor sich. Die Röhrchen wurden im Stativ während des Versuchesverlaufes häufig durchgeschüttelt. Der Versuch wurde 2 Stunden nach Zufügen der letzten Ingredienzien in der Regel als beendet angesehen.

Die Behandlung aller Röhrchen ein- und desselben Versuches erfolgte völlig gleichzeitig und gleichmäßig; dies bezieht sich hauptsächlich auf das während des Versuchesverlaufes stets erfolgte häufige Schütteln. Zu diesem Zwecke nahm ich zwei oder mehrere einander entsprechende Röhrchen aus dem Stativ, hielt sie mit einer Hand parallel nebeneinander und schlug mit den Fingerspitzen der anderen Hand seitlich auf den Boden der Eprouvetten. Zahl und Intensität der Schläge waren stets völlig gleichmäßig. Mit allen übrigen Röhrchenpaaren¹⁾ verfuhr ich genau so.

Es wurden in der Regel 4 Röhrchenpaare aufgestellt, welche sich voneinander nur durch die Quantität des Rinderserums unterschieden, während die übrigen Ingrediensien (mit Ausnahme der auf 2,5 ccm ergänzenden Kochsalzlösung) qualitativ und quantitativ dieselben blieben.

Das Rinderserum kam konzentriert in Anwendung. Es wurden fast stets Quantitäten von 0,1, 0,2, 0,3 und 0,5 ccm gewählt.

Die Tabellen der drei von mir am häufigsten angewandten Versuchsanordnungen seien hier angegeben.

I. Schema (für frische Rindersera).

Die Röhrchen enthalten :

| | Rinderserum | physiologische Kochsalzlösung | 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung |
|----|-------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| 1. | 0,1 | 1,9 | 0,5 |
| 2. | 0,2 | 1,8 | 0,5 |
| 3. | 0,3 | 1,7 | 0,5 |
| 4. | 0,5 | 1,5 | 0,5 |

1) Ich verglich gewöhnlich 2 Sera (Immunserum und Rinderpestserum) miteinander. Handelte es sich um die Untersuchung dreier Sera, so mußten stets 3 Eprouvetten gleichzeitig den gleichen Prozeduren ausgesetzt werden.

II. Schema (alexinierte Rindersera, native Erythrozyten).

Die Röhrchen enthalten:

| | Rinderserum | physiologische Kochsalzlösung | 10 % Alexin | nach einer Stunde Erythrozyten |
|----|-------------|----------------------------------|-------------|-----------------------------------|
| 1. | 0,1 | 1,4 | 0,5 | 0,5 |
| 2. | 0,2 | 1,3 | 0,5 | 0,5 |
| 3. | 0,3 | 1,2 | 0,5 | 0,5 |
| 4. | 0,5 | 1,0 | 0,5 | 0,5 |

III. Schema (alexinierte Rindersera, sensibilisierte Erythrozyten).

Die Röhrchen enthalten:

| | Rinderserum | physiologische Kochsalzlösung | 10 % Alexin | nach einer Stunde Erythrozyten + spezif. Amboseptor aa |
|----|-------------|----------------------------------|-------------|--|
| 1. | 0,1 | 0,9 | 0,5 | 1,0 |
| 2. | 0,2 | 0,8 | 0,5 | 1,0 |
| 3. | 0,3 | 0,7 | 0,5 | 1,0 |
| 4. | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 1,0 |

Nach dem Gebrauch wurden die Flaschen, welche das Rinderserum enthielten, im Kühlschrank bei einer Temperatur von 2–10 ° C aufbewahrt. Nach wochenlangem Stehen nahmen die Sera wohl stärkere hämolytische Tönung an, doch störte dies, namentlich bei kleineren Rinderserumdosen, keineswegs wesentlich die Beurteilung des Versuchsergebnisses.

Für die mir vom Personal der Tschitaer Rinderpeststation geleistete Unterstützung spreche ich an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aus, namentlich danke ich Herrn Feldscher Maxim Danilowitsch Oxin für die Zustellung zahlreicher steriler Sera und Erythrozytenarten.

Auszüge aus den Versuchsprotokollen.

1. und 2. Versuchsprotokoll. Beschreibung siehe Einleitung.

3. Versuchsprotokoll. Die beiden Rindersera wurden zuerst inaktiviert, mit sensibilisierten Hammelblutkörperchen und Meer-schweinchenkomplement versetzt; Resultat: undeutliche Konglutationsphänomene; feine Flöckchen oder Klümpchen.

4. V.P. Zur Untersuchung kamen 3 Sera. 1) das eines gesunden Tieres, 2) das eines pestkranken Tieres und 3) das eines 1 Monat alten Kalbes. Versuchsanordnung I (vgl. oben), Indikatoren, Hammelblutkörperchen.

Ergebnis. Die Konglutationsfähigkeit im Serum des 1 Monat alten Kalbes war nur um ein Geringes schwächer als die im Serum des erwachsenen gesunden Tieres; im Rinderpestserum nicht die Spur von Konglutination.

5. VP. Es wurde das Serum eines 3 Tage alten Hundes auf seine Wirkungen gegen native Hammelerythrozyten untersucht. (Versuchsanordnung I, nur Hundeserum statt Rinderserum.) Ergebnis nach 2 Stunden: Röhrchen 1 H+++, Röhrchen 2–4 H++++. Keine Spur von C und A. (Ueber die Wirkung des Hundeserums, unterstützt durch hämolytischen Ambozeptor eines gegen Hammelerythrozyten immunen Kaninchens siehe VP. 16 u. a.)

6. VP. Es kamen die 1½ Tage alten Sera des VP. 4 zur Untersuchung: g = gesund, p = Pest, k = Kalb. Versuchsanordnung nach Schema III (Hundealexin 10 Proz., sensibilisiertes Hammelblut).

Ergebnis nach 2 Stunden: Alle g- und k-Röhrchen vollkommen klar, Hämolyse, Conglutinatio maxima. Die Röhrchen p zeigen ebenfalls Hämolyse gegen p 4 zu stärker werdend; in ihnen keine Spur von Konglutination.

7. VP. Zur Untersuchung gelangten die 3 Tage alten Rindersera g und p. Dieselben waren zusammen mit ihrem Blutkuchen bei 10° C aufbewahrt. Versuchsanordnung nach Schema III. Das Rinderserum wurde mit Meerschweinchenkomplement 1 Stunde gebunden, hierauf die ½ Std. sensibilisierten Hammelblutkörperchen zugefügt.

Ergebnis nach 2 Stunden: Alle p-Röhrchen vollkommen klar, ohne Spur Bodensatz, H++++; alle g-Röhrchen völlig klar. Am Boden liegt überall ein feiner gequollener Niederschlag von zarter rosa Farbe, welcher sich bei vorsichtigem leichtem Schütteln¹⁾ in Form eines schleierartigen zusammenhängenden Gebildes („Wolkenform“) ablöst, um nach sekundenlangem Schweben in der klaren Flüssigkeit sich wieder an den Röhrchenboden anzulegen.

Ergebnisse aus den Versuchen 6 und 7.

1) Das mehrere Tage alte Rinderserum bringt, mit Meerschweinchen, resp. Hundealexin versetzt, das Konglutinationsphänomen deutlich zur Anschauung.

2) Nach Beendigung des Versuches 6 wurden die Röhrchen etwa auf 1 Stunde einer Temperatur von über 42° C ausgesetzt, dadurch wurden die Konglutinationsklumpen fragil, wodurch nach dem Schütteln in allen 12 Röhrchen eine homogene Trübung resultierte.

3) Das Rinderpestserum hat trotz des 1-stündigen Beisammenseins nicht die geringste Störung auf die komplettierende Wirkung des normalen aktiven Serums ausgeübt.

8. VP. Zur Untersuchung gelangten die 3 Tage alten Rindersera g und p. Komplettierung mit Meerschweinchenalexin. Als Indikatoren gelangten Hundeblutkörperchen zur Anwendung. Resultat nach 2 Stunden:

1) Um die „Wolkengebilde“ schön zur Darstellung zu bringen, schwenke man die Röhrchen leicht, bis sich der Niederschlag oben von der Wand losreißt. Das sonst übliche starke mehrmalige Klopfen führt zu Zerreißung der zarten „Wolke“ in Fetzen.

Alle Röhrchen sind nach dem Schütteln homogen getrübt, keine Hämolyse, keine Konglutination.

9. VP. 2 frische Rindersera a und b. Versuchsanordnung nach Schema I. A. mit Hammelerythrozyten, B. mit Hundeerythrozyten.

Versuchsverlauf. Während in allen a-Röhrchen der Versuchsanordnung A typische Konglutination eintrat, die b-Röhrchen hingegen ausnahmslos völlig homogen getrübt blieben, so daß es schon nach 20 Minuten gelang, die Diagnose a = gesund, b = Rinderpest zu stellen, verhielten sich hingegen in der Versuchsanordnung B die 8 Röhrchen völlig gleich: es resultierte nach 2-stündigem Stehen überall homogene, deckfarbenrote Trübung nach dem Schütteln. Ergebnis: Hundebutkörperchen lassen sich von Rinderserum nicht konglutinieren.

10. VP. Versuchsanordnung wie in 9 A. Sera, physiologische Kochsalzlösung, Reagenzgläser, Pipetten etc. wurden 2 Stunden vor Beginn des Versuches in ein Zimmer von der ständigen Temperatur von 0–1° C gebracht. Der Versuch selbst wurde in eben diesem Zimmer ausgeführt und gehalten. Versuchsanordnung a) wurde völlig unberührt gelassen, Versuchsanordnung b) wurde von 10 zu 10 Minuten geschüttelt.

Versuchsverlauf. Versuchsanordnung b. In alle a-Röhrchen Bildung eines Konglutinationshäutchens erst nach 30–60 Minuten, nach dem Abschütteln Flocken und Aufhellung; b-Röhrchen gleichmäßig getrübt.

Versuchsanordnung a am anderen Morgen ähnlicher Befund wie in b, nur viel undeutlicher, namentlich in den 1er Röhrchen Unterschied verwischt.

Ergebnisse: 1) Der Versuch beweist, daß das Rinderkolloid auch in der Kälte seine Wirkung ausübt. 2) Das Schütteln hat einen fördernden Einfluß auf das Zustandekommen des Konglutinationsphänomens.

11. u. 14. VP. Es wurden die Sera von 5 gesunden resp. pestkranken Rindern mit Erythrozyten eines gesunden bzw. pestkranken Rindes digeriert. Zweck: Nachweis event. vorhandener Isoagglutinine resp. Isohämolyse. Ergebnis: Weder im normalen noch im Rinderpestserum konnten Isolysine resp. Isoagglutinine gegen normale und Rinderpesterythrozyten nachgewiesen werden.

12. VP. Zur Untersuchung gelangten 3 Serumpaare: 1) ein 2 Tage, 2) ein 7 Tage und 8) ein 11 Tage altes Serumpaare (g und p). Die Sera standen in den Flaschen mit den Blutkuchen bei 10° C und waren während der ganzen Zeit dem Lichte ausgesetzt. Die älteren Serumpaare waren bereits schwarzrot tingiert und rochen schon leicht nach Zersetzung. Versuchsanordnung nach Schema II (Hundeserum, native Hammelerythrozyten), für das 2 Tage alte Serumpaare wurde überdies VA. Schema I aufgestellt (4). Ergebnis nach 2 Stunden:

1. Serumpaare: g_{1-3} C++++, p_{1-4} C—.
2. Serumpaare: g_4 C++++, g_3 C++, g_2 +, und p_{1-4} C—.
3. Serumpaare: g_4 C±, alle anderen Röhrchen C—.
4. (Serumpaare 3 nach Schema II): $g_{4,3}$ C++++, g_2 C+, g_1 und p_{1-4} C—.

Ergebnisse: 1) Das 48 Stunden alte Rinderserum ist nur noch in den hohen Dosen (0,3, 0,5) noch imstande, die Konglutinationsreaktion hervorzurufen; 2) bei den 48 Stunden alten Rinderseris erwies sich die Zuhilfenahme des frischen Hundekomplements als sehr zweckmäßig: schon nach $\frac{1}{2}$ Stunde war der typische Verlauf der Reaktion auch in den Röhrchen mit der kleinsten Serumdosis (0,1) ersichtlich; 3) bei den älteren Serumpaaren erwies sich die Komplettierung allein als unzureichend.

Gelegentliche Beobachtung: Beim Zugießen von destilliertem Wasser zu den Röhrchen des Versuches 1) tritt bei gleichzeitigem Schütteln in den p-Röhrchen sogleich Hämolyse ein, während die g-Röhrchen (mit C++++) lange Zeit farblos bleiben. (Beweis für die solide Zusammenballung der roten Blutkörperchen.)

13. VP. Zur Untersuchung gelangten dieselben 3 Paar Seren wie in VP. 12, nur kam Schema III (Hundeserum als Komplement, sensibilisierte Hammelerythrozyten als Indikator) in Anwendung.

Versuchsverlauf nach 2 Stunden: In allen g-Röhrchen der 3 Serumpaare Conglutinatio maxima, alle p-Röhrchen homogen getrübt.

Ergebnisse: Bei über 2 Tage alten Rinderseris ist bei Anwendung von Hammelerythrozyten außer dem Komplement auch der spezifische Ambozeptor zur Auslösung des Konglutinationsphänomens erforderlich (obwohl seine hämolytische Komponente hierbei nicht zur Geltung kommt).

15. VP. Versuche mit frischem Immunsrum eines mit Rinderpestvirus nach der Simultanmethode hochimmunisierten Rindes (Schema I, Hammelerythrozyten).

Ergebnis: Die Konglutination erfolgte vollständig und eher noch schneller als beim gesunden Serum. Außerdem wurde bei Serumdosis 10,5. Hämolyse der Hammelerythrozyten beobachtet. (Nach Bordet und Streng werden die nahe verwandten Ziegenerythrozyten vom Rinderserum nicht hämolytisiert.)

16. VP. Vorversuche mit Hundealexin (vgl. Kap. II). Bei der Titrierung des hämolytischen Ambozeptors für Hammelerythrozyten mit Hundekomplement ergibt sich: 1:100 H — A++++, 1:200 H ± A—, 1:300 H+ A—, 1:600 H++ A—, 1:1500–1:3000 H+++ A—.

17. VP. Anwendung 7 Tage alter Sera g, p und i. Versuchsanordnung nach Schema III (Hundealexin, sensibilisierte Hammelerythrozyten). Titer des Ambozeptors 1:250, auf Grund der Vorversuche (16. Versuchsprotokoll, vgl. auch Kap. II) bestimmt, Rinderserum und Hundekomplement wurden allein eine Stunde lang im Thermostaten beisammen gehalten und zwecks inniger Vereinigung während dieser Zeit mehrmals geschüttelt. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde wurde die Flasche mit 5 Proz. Hammelblutkörperchen + hämolyt. Ambozeptor aa in den Thermostaten gestellt und nach Verlauf einer weiteren halben Stunde je 1 ccm der Mischung in jedes Röhrchen zugegeben.

Versuchsverlauf: Nach 10 Minuten in allen g- und i-Röhrchen feststehendes Konglutinationshäutchen, welches nach dem Abschlagen sich in schnell zu Boden sinkende Flocken auflöst. Die Flüssigkeit hellt sich rasch völlig auf.

Nach 15 Minuten Reaktion beendigt: In allen g- und i-Röhrchen Congl. maxima, Flüssigkeit farblos, alle p-Röhrchen gleichmäßig getrübt, ohne Spur eines Konglutinationshäutchens, deutlich fortschreitende Hämolyse. Nach 2 Stunden: Bei vorsichtigem Schwenken des Röhrchens g und i bemerkt man, vom Konglutinationsbrocken ausgehende, stark hämolytisch tingierte Schlieren in der Flüssigkeit. Alle Röhrchen etwas hämoglobinhaltig.

18. V.P. Genau dieselbe Versuchsanordnung mit denselben Seris wie in V.P. 18; nur wurden in der Anordnung A die Rinder sera im nativen, in der Anordnung B dieselben im inaktivierten Zustande ($\frac{1}{2}$ Stunde bei 55° C) angewandt. Resumé des Versuchsverlaufes: Während in der Versuchsanordnung A die Reaktion nach 20 Minuten schon vollendet und völlig typisch war (in den g, i-Röhrchen Congl. maxima, die p-Röhrchen homogen getrübt), verlief die Reaktion in der Versuchsanordnung B. viel langsamer und weniger typisch, das Konglutinationshäutchen war hier dürrig, die Flocken viel fragiler, selbst nach 2 Stunden kam es hier nirgends zu typ. Congl. maxima, hingegen war hier die Hämolyse stärker.

Ergebnisse: 1) Dank der Kombination mit Hundealexin, gelang es auch bei inaktivierten Seris die Reaktion zur Anschauung zu bringen.

2) Die Anwendung inaktivierter Sera hat bei dieser Kombination gegenüber der Anwendung nicht inaktivierter Sera Nachteile:

a) Die Reaktion mit nichtinaktivierten Seris ging rascher und prägnanter vor sich als bei Anwendung inaktivierter Seris.

b) Die Konglutinationsbrocken bei den nicht inaktivierten Seris waren solide, „schüttelfest“, während die konglutinierten Fetzen bei den inaktivierten Seris fragil waren.

3) Auffallend ist die Beeinflussung der Hämolyse durch die verschieden behandelten Rinder sera: während bei Anwendung nicht inaktivierter Rinder sera die Hämolyse ausblieb, kam sie bei Anwendung inaktivierter Sera sehr stark zur Geltung.

19. V.P. Zwei Sera g und p vom Vortage. Versuchsanordnung A. Hammelerythrozyten, Versuchsanordnung B. Kaninchenerythrozyten. Schema I.

Ergebnisse: 1) Das über 1 Tag alte Serum war allein nur in der höchsten Dosis (0,5 ccm) imstande, Konglutination der Hammelblutkörperchen hervorzurufen, und das erst nach 1 Stunde.

2) Hingegen wurden die Kaninchenerythrozyten sofort vom Rinder serum intensiv angegriffen und teils hämolysiert, teils konglutiniert.

3) Auch das Rinderpestserum zeigte gegenüber den Kaninchenerythrozyten starke hämolytische Wirkung, aber nicht die geringste Fähigkeit, diese zu konglutinieren.

4) Mikroskopisch erwiesen sich die feinsten Körnchen, die in den Röhrchen mit Rinderpestserum auftraten als lose Aneinanderordnung völlig unversehrter Kaninchenerythrozyten zu ganz kleinen Häufchen ohne Spur bindender Zwischensubstanz oder Aneinanderklumpung. Sie unterschieden sich dadurch auch mikroskopisch sehr deutlich von dem „wolken“förmigen Konglutinationsklumpen, welche sich als eine einzige, mächtige, widerstandsfähige, amorphe Scholle erwies.

20. VP. 1. Vorversuch: Verhalten frischen Hundeserums gegenüber Meerschweinchenerythrozyten; totale Hämolyse der Meerschweinchenblutkörperchen durch 0,15 ccm Hundeserum, keine Zusammenballung.

2. Vorversuch: Verhalten frischen Hundeserums gegenüber sensibilisierten Hammelerythrozyten (vgl. VP. 16 und Kap. II). Bei über 6facher Ambozeptordosis starke Resistenz gegenüber der Hämolyse der Hammelblutkörperchen durch Hundeserum; ist die Verdünnung des hämolytischen Ambozeptors über 3mal so groß als sein 'Titer'), so fallen die Hammelerythrozyten der Hämolyse durch das Hundeserum anheim.

Hauptversuch I. Es kamen 48 Stunden alter Rindersera g und p zur Untersuchung. Indikatoren A. Hammelblutkörperchen, B. Meerschweinchenblutkörperchen. Alexin: frisches Hundeserum, Schema II.

Hauptversuch II. Dieselben Sera wie in I, nur Schema III (10 Proz. Hundealexin, sensibilisierte Hammelerythrozyten). Ergebnisse aus den beiden Hauptversuchen:

1) Die Meerschweinchenerythrozyten verhalten sich ähnlich wie die Kaninchenerythrozyten, nur sind sie gegen die Konglutination und Hämolyse durch das Rinderserum noch empfänglicher (die nicht sensibilisierten Hammelblutkörperchen sind im Vergleich hierzu der Konglutination gegenüber bedeutend widerstandsfähiger). Die Hämaggglutination („Körnchen“, siehe VP. 19) ist wesentlich geringer als bei den Kaninchenerythrozyten.

2) Rinderserum p und g hatten im Verein mit frischem Hundeserum (in einer Dosis 0,05 ccm, welche allein die Meerschweinchenblutkörperchen nicht völlig hämolysiert — vgl. Vorversuch I) eine starke Hämolyse befördernde Wirkung. (Die 2 Tage alten Rindersera enthielten offenbar noch Reste von Hämolysinen.)

3) Die Congl. maxima der Hammelblutkörperchen unterscheidet sich in dieser Versuchsanordnung deutlich von der Congl. maxima der Meerschweinchenerythrozyten. Bei den Hammelerythrozyten resultiert ein fester, intensiv rot gefärbter polsterartiger Klumpen; bei den Meerschweinchenblutkörperchen wird im Klumpen der Blutfarbstoff mehr oder weniger völlig ausgepreßt (Wolkenform).

4) In Uebereinstimmung mit zahlreichen früheren und folgenden Versuchen erfolgt bei der Kombination, die im Hauptversuch II zur Anwendung kam, die Reaktion rasch und typisch.

1) Titer an 0,05 ccm Meerschweinchenkomplement bestimmt!

Nebenversuch I. Die Sera wurden in langen Kapillarrohren scharf zentrifugiert und gefrieren lassen. Die untersten und obersten Teile der Flüssigkeitssäule kamen hierauf zur Untersuchung. Ergebnis: durch scharfes Zentrifugieren und einmaliges Gefrierenlassen erfolgte keine merkbare Umlagerung der Konglutinine.

Nebenversuche II und III. Prüfung der mit Hundeserum komplettierten Rinder sera auf eventuell vorhandene Iso- und Autoagglutinine oder Konglutinine. Resultat: In Uebereinstimmung mit früheren Versuchen (11, 14) nirgends Isohämolyse, resp. Iso- oder Autoagglutination.

21. V P. Es gelangten 3 Sera zur Untersuchung: 1) g, 2) p und 3) das Serum eines maul- und klauenseuche kranken Tieres (Serum C). (6. Krankheitstag, Temperatur zur Zeit der Blutentnahme 39,4°, Tag des Fieberabfalles und Uebergang in Genesung.) Schema I. Indikatoren: Hammel- und Kaninchenerythrozyten. Während des Versuchsverlaufes zeigte Serum c ebenso starken Konglutiningehalt wie Serum g, während dem Serum p die Konglutinine vollkommen fehlten.

Resultate: 1) Das Serum des maul- und klauenseuche kranken Tieres (Zeit der Blutentnahme siehe oben!) konglutinierte ebenso rasch und typisch wie das Serum des gesunden Tieres.

2) Das Rinderpestserum hatte in diesem Falle von allen 3 Seris die stärkste hämolysierende Wirkung gegenüber den Kaninchenerythrozyten.

22. V P. Es wurden die am Vortage entnommenen Sera des Versuchsprotokolls 21. nach verschiedenen Versuchsanordnungen hin untersucht.

1) Schema II. Kaninchenkomplement¹⁾ (0,1). Als Indikatoren Hammel- und Meerschweinchenerythrozyten.

2) Schema II. Komplement: frisches Hundeserum, Indikatoren: Hammel-, Meerschweinchen- und Kaninchenerythrozyten.

3) Schema III. Komplement: frisches Hundeserum, als Indikatoren sensibilisierte Hammelblutkörperchen.

Zweck der Versuchsanordnungen: Wie verhält sich das Serum eines maul- und klauenseuche kranken Rindes in der Rekonvaleszenz im Vergleiche mit dem Serum gesunder und rinderpest kranken Tiere unter gleichen Bedingungen zur Kolloidreaktion bei verschiedenartigen Versuchsanordnungen?

Ergebnisse: 1) Das Serum c konglutinierte ebenso stark und schnell (in einigen Versuchsanordnungen stärker und schneller!) wie Serum g. In allen Versuchsanordnungen, in allen zusammengehörenden Röhrchen unverkennbarer Unterschied zwischen g und c gegenüber p.

2) Das in Alexin des in der Agone getöteten wut kranken Kaninchens erwies sich in der Dosis 0,1 ccm zur Komplettierung als brauchbar.

3) Im Versuche 2) machte sich in Rinderpestserum nach längerem Stehen die schon beschriebene Agglutination der Kaninchenerythrozyten

1) Entnommen von einem in der Agone getöteten wut kranken Kaninchen.

(siehe Prot. 19. VB. Ergebnis 4) in Form einer feinen Körnelung einigermaßen störend bemerkbar.

4) Die Versuchsanordnung III (Sensibilisierung und Alexinierung der 2 Tage alten nativen Rindersera in der Kombination: sensibilisierte Hammelerythrozyten, Hundealexin) erwies sich allen anderen überlegen: a) schon 15' nach Zugießen der sensibilisierten Hammelerythrozyten konnte das Resultat abgelesen werden, b) durch die richtige Wahl der Ambozeptordosis kam es nirgends zu irgendeiner störenden Nebenagglutination, c) die Röhrchen mit den geringen Rinderserumdosen (0,1 ccm) ergaben ebenso rasch und exakt (oft noch schneller!), die Konglutinationsreaktion wie die Röhrchen mit den größeren Dosen.

23. V P. Es wurden Menschenerythrozyten im Vergleiche mit Meerschweinchen- und Hammelerythrozyten als Indikatoren bei einem frischen Rinderserumpaare p und g geprüft. Schema I. Ergebnisse (vgl. auch Allgemeiner Teil, Kap. III):

1) Die Konglutinine des Rinderserums klumpen energisch die Menschenerythrozyten zusammen. Die hämolytischen Komponente gegenüber den Menschenerythrozyten ist im Rinderserum gering; sie ist sowohl im Rinderpest- als auch im gesunden Rinderserum enthalten.

2) Alexinhaltiges Rinderpestserum (gegen Ende der Krankheit entnommen) hat nicht die geringste konglutinierende Fähigkeit gegenüber Menschenerythrozyten.

3) Menschenerythrozyten werden leichter und vorher als Hammelerythrozyten konglutiniert.

4) Menschenblutkörperchen werden zwar langsamer konglutiniert als Meerschweinchenblutkörperchen, dagegen ist der gebildete Konglutationsklumpen infolge der geringen Hämolyse mächtiger und kompakter, während er mit Meerschweinchenerythrocyten infolge der starken hämolysierenden Komponente des Rinderalexins gegenüber diesen Blutkörperchen dürrtiger und zarter ausfällt („Wolke“).

24. V P. Hämolytische Vorversuche mit frischem Menschenalexin ¹⁾. Als Indikatoren kamen Hammel- ²⁾ und Meerschweinchenblutkörperchen in Anwendung.

Ergebnis: In allen angewandten Konzentrationen des hämolytischen Ambozeptors und des Menschenserums kam die störende hämagglutinierende Nebenwirkung des Menschenalexins zur Anschauung.

25. V P. 1. Vorversuch. Es wurden verschiedene Quantitäten von konzentriertem Pferdeserum (0,02—0,5 ccm) mit Hammelerythrozyten digeriert, um das Verhalten des Pferdeserums zu den Hammelblutkörperchen zu untersuchen. Nach 2 Stunden: in keinem der Röhrchen auch nur eine Spur von Hämolyse oder Hämagglutination. Niederschlag völlig homogen.

1) Vgl. P. Rißling, Beiträge zur Biologie normaler Tiersera Centralbl. f. Bakt., Orig., 1. Abt., Bd. 44.

2) Teils nativ, teils sensibilisiert.

2. Vorversuch. Es wurden konstante Pferde- und Hundeserum-mengen mit verschiedenen sensibilisierten Hammelblutkörperchen zusammengebracht. Nach 2 Stunden: Pferdeserum: H—A—!; Hundeserum: bei starker Konzentration des hämolytischen Ambozeptors Ueberwiegen der Agglutination, bei zunehmender Verdünnung: Vorherrschen der Hämolyse.

I. Hauptversuch. 4 Tage alte Sera g und p. A. Hunde-, B. Pferdeserum, sensibilisierte Hammelblutkörperchen. Schema III.

Versuchsverlauf. Während bei Anwendung von Hundeserum nach 30' die Reaktion beendet war (Röhrchen g Congl. max., Röhrchen p ohne Spur von Konglutination, fast völlige Hämolyse) sahen in der Versuchsanordnung mit dem Pferdeserum alle 8 Röhrchen einander völlig gleich: keine Agglutination, keine Hämolyse, am nächsten Morgen bemerkt man in allen 8 Röhrchen mit dem Pferdeserum völlig unterschiedslos in p und g am Boden maximalen Niederschlag, welcher sich bei sehr vorsichtigem Schwenken in Form eines einzigen Klumpens losreißt. Bei dem ersten kräftigen Schlage zerfällt jedoch dieser Klumpen sogleich zu einem homogenen Detritus, zwischen den sich nur einzelne krümelige Schollen längere Zeit erhalten. In allen Röhrchen g und p völlig unterschiedslos nach dem Schütteln homogener Trübung¹⁾.

II. Hauptversuch. Es gelangte 3 Tage altes Rinderserum g teils unkomplettiert, teils mit frischem Hundeserum versetzt, in Anwendung, Indikatoren: Meerschweinchenerythrozyten Schema I resp. Schema II.

Ergebnisse: 3 Tage alte Rindersera sind auch in den kleinen Dosen noch imstande, allein Meerschweinchenerythrozyten zusammenzuballen; die Komplettierung durch Hundealexin ist in diesem Falle demnach unnötig, immerhin beschleunigte und verfeinerte das Hundealexin die Reaktion.

26. V.P. Zur Untersuchung gelangte das 15 Tage alte Serum g. Es wurde kurz nach der Blutentnahme in lange Kapillarröhrchen eingegossen, zentrifugiert und frieren gelassen. Jeden Tag wurde es über Mittag auf einige Stunden aufgetaut. Schon nach einigen Tagen konnte man im Röhrchen 3 Schichten unterscheiden: die oberste Schicht war völlig farblos, wie reines Eis, sie ging dann allmählich in die mittlere hellgelb gefärbte Schicht über, in welcher bereits einige streifenförmige, intensiver gefärbte Schlieren wahrnehmbar waren. Die unterste Schicht am Boden des Röhrchens war homogen, intensiv orangerot gefärbt. Am Uebergang dieser Schichten wurden die Röhrchen mit der gefrorenen Flüssigkeit angefeilt, in 3 Teile gebrochen, der oberste und der unterste Teil in je ein bereit gehaltenes Reagenzglas geworfen und hier auftauen lassen. Hierauf wurde die unterste und oberste Serumfraktion auf ihre konglutinierende Wirkung untersucht. Die Röhrchen mit den Serum-mengen aus dem obersten Teil des Kapillarröhrchens wurden mit o₁—o₄,

1) Vgl. Streng in Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, S. 430, Punkt 5 der Zusammenfassung.

die aus dem untersten Teil u_1-u_4 bezeichnet. Alexin: frisches Hundeserum, Indikator: sensibilisierte Hammelerythrozyten. Versuchsanordnung nach Schema III; die Rindersera kamen hier in den Dosen 0,02, 0,04, 0,07 und 0,1 ccm in Anwendung.

Der Verlauf ist folgender:

nach 10' deutlicher Unterschied: während in den Röhrchen o die Hämolyse schon weit vorgeschritten ist, sind die Röhrchen u noch maximal getrübt.

nach 15' Unterschied noch krasser: Alle Röhrchen o sind bereits klar, H + + +, Röhrchen u_4 zeigt beginnende Konglutination, die übrigen u-Röhrchen noch maximal homogen getrübt.

nach 45' $o_{1-4} = H + + + + C -$, $u_1 =$ zusammenhängende Fetzen und Flocken, $u_2 = C + + +$, $u_{3,4} = C + + + +$.

nach 2 Stunden $o_{1-4} H + + + + C -$, $u_{1-4} H \pm C + + + +$.

Zweck des Versuches: Ist eine Umlagerung und Konzentrierung der Konglutinine durch mehrmaliges Gefrieren und Wiederauftauen lassen ¹⁾ wahrnehmbar. (Ueber 1 maliges Gefrieren siehe VP. 20, Nebenversuch 1.)

Ergebnisse: 1) Während das einmalige Gefrierenlassen des Rinderserums keine Umlagerung der Konglutinine zur Folge hatte, gelang es durch oftmalige Wiederholung dieses Prozesses im Verlauf von 2 Wochen die Konglutinine ausschließlich in der untersten Serumschicht zu konzentrieren.

2) Die unterste Serumfraktion, welche ausschließlich die Konglutinine enthielt, zeigte eine auffallende hämolysehemmende Wirkung.

3) Zur Auslösung der Konglutinationereaktion genügte 0,02 ccm Rinderserum aus der untersten Schicht.

27. VP. Es kamen die Sera von 3 mit Pestkontagium geimpften Rindern zur Untersuchung, außerdem als Kontrolle das Serum eines gesunden Tieres. Alle Sera wurden am Vormittage des Versuchstages entnommen. Die Daten betreffs der Sera sind folgende:

| | Rind No. 67 (Serum 1) infiziert am 21. 3. | Rind No. 46 (Serum 2) infiziert am 20. 3. | Rind No. 44 (Serum 3) infiziert am 19. 3. | Serum 4 |
|--------|---|---|---|---------------|
| 21. 3. | . | . | 39,5 | gesundes Rind |
| 22. 3. | . | 40,0 | 39,4 | |
| 23. 3. | 39,3 | 41,0 | 39,9 | |
| 24. 3. | 39,7 | 39,8 | 40,0 | |
| 25. 3. | 39,7 | 39,2 | 39,3 Versuchstag, Blut- entnahme am Vormittag | |
| 26. 3. | ? | 40,8 | 39,2, entblutet | |
| 27. 3. | ? wurde am 29. 3. entblutet | 40,8, entblutet | . | |

1) Siehe Dr. Tetsuda Ito, Tokio, „Ueber die Konzentration der Serumqualitäten durch Gefrieren etc.“ in Zeitschrift für Immunitätsforschung, Bd. 15, S. 97—116.

Alle Sera wurden sogleich nach Ausscheiden des Blutkuchens abpipettiert. Zentrifugiert und untersucht. Indikatoren: Menschen- und Meerschweinchenerythrozyten Schema I.

A. Menschenerythrozyten.

Nach 15' beginnendes Konglutinationshäutchen in 4', alle andern Röhrchen homogen getrübt.

Nach 60' 4⁴⁻³ Congl. max. H +, in 4² festsitzendes Konglutinationshäutchen, 4¹ homogen getrübt.

3¹ stark aufgeheilt, fragile Fetzen, nach dem Schütteln Auflösung in feinste Flöckchen 3⁴—3¹ homogen getrübt.

2⁴⁻¹ homogen getrübt.

1⁴ Aufhellung, deutliche Konglutination. 1³⁻¹ homogene Trübung.

Nach 2 Stunden 4⁴⁻² Congl. max. 1¹ C + + +.

3¹ C + +, 3³ C +, 3²⁻¹ C —.

2⁴⁻¹ C —.

1² C + (+), 1³ C +, 1²⁻¹ C —.

B. Meerschweinchenerythrocyten.

Nach 15' Konglutinationshäutchen, Flockung, Aufhellung in 4', alle andern Röhrchen noch homogen getrübt.

Nach 60' 4⁴⁻² Congl. max., starke Hämolyse. In 4¹ festsitzendes Konglutinationshäutchen, Flockung, Aufhellung.

3⁴⁻³ starke Hämolyse, Spur Flockung, 3²⁻¹ homogene Trübung.

2⁴⁻¹ keine Spur Flockung, Trübung völlig homogen gegen Röhrchen 2⁴ zunehmenden Hämolyse.

1⁴⁻³ klar, starke Flockung, 1² Aufhellung, zarte Flockung, 1¹ völlig homogen getrübt.

Nach 2 Stunden 4⁴⁻¹ Congl. max.

3⁴⁻³ C + + + 3³ C +, 3¹ C —.

2⁴⁻¹ C —.

1⁴⁻³ C + + + +, 1² C + +, 1¹ C —.

Aus diesem Versuchsprotokoll ist ersichtlich, daß bereits im frühen Krankheitsstadium ein Abfall des Konglutiningehaltes im Blute wahrnehmbar ist. Außerdem geht hervor, daß zwischen der Höhe der Temperatur und dem Konglutininschwund kein direkter Zusammenhang besteht. Rind No. 2, dessen Serum sich durch völligen Konglutinmangel auszeichnete, hatte zur Zeit der Blutentnahme eine subfebrile Temperatur.

28. V P. Es wurden Versuche mit schwächer und stärker inaktivierten Rinderseris angestellt. Die Resultate dieser Versuchsreihen sind u. a. folgende: 1) während das durch 1/4 stündiges Erwärmen auf 52° C abgeschwächte Rinderserum die Meerschweinchenblutkörperchen nach 2 Stunden stark konglutinierte, war die konglutinierende Wirkung gegenüber Menschenerythrozyten durch obige Schädigung völlig oder fast völlig zerstört worden. 2) Eine 1/2 stündige Erhitzung auf 55° C vernichtete völlig die Konglutinierende Wirkung auch gegenüber Meerschweinchenerythrozyten. 3) Bei Zusatz von frischem Hundealexin zum inaktivierten Rinderserum kam es wieder zu starker Konglutination der Meerschweinchenerythrozyten.

29. VP. I. Es wurde das frische Serum eines mit Variola vaccina infizierten großen Kalbes auf seinen Konglutiningehalt hin untersucht. Temperatur während der Blutentnahme 40° C. 5. Fiebertag. Als Indikatoren kamen 1) Hammel-, 2) Meerschweinchen-, 3) Kaninchen- und 4) Menschenerythrocyten in Anwendung. Versuchsanordnung Schema I.

| Ergebnis nach 2 Stunden: | | | | |
|--------------------------|----------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| | 1) Hammel- erythrozyten | 2) Meerschweinchen- blutkörperchen | 3) Kaninchen- blutkörperchen | 4) Menschen- blutkörperchen |
| 1. | H — C — | H +++(+) C — | H ± A ++ | H ± A ++ |
| 2. | H — C — | H +++(+) C — | H ++ A ± | H ++ A + |
| 3. | H — C — | H +++(+) C — | H ++ C — | H +++(+) C — |
| 4. | H — C — | H ++++ C ±? | H ++ C — | H +++ C — |

Als Kontrolle kam gleichaltriges gesundes Rinderserum in Anwendung, welches in allen Röhrchen jede der angewandten Erythrozytenarten maximal konglutinierte.

Die Kaninchen- und Menschenblutkörperchen zeigten somit in ihrem Verhalten zum Serum des variolakranken Kalbes eine sehr große Ähnlichkeit; die Meerschweinchenerythrozyten wurden von 0,1 ccm des Var. vacc.-Serums glatt hämolysiert; die Hammelerythrozyten erwiesen sich gegen alle angewandten Serumdosen immun. Merkwürdig ist die makroskopisch deutliche Hämagglutination der Kaninchen- und Menschenerythrozyten durch die kleinen Serumdosen, während die großen Rinderserumdosen nur stark hämolysierten.

II. Das 48 Stunden alte Serum V. des pockenkranken Rindes wurde mit den ungefähr gleichaltrigen Seris g und p nach Schema III (Hundealexin, sensib. Hammelblutkörperchen) untersucht. Ergebnis: In allen Röhrchen g Conglutinatio maxima; in keinem der Röhrchen p und v auch nur Spuren von Konglutination.

III. Dieselben Sera wie in II, Hundeserum, native Meerschweinchenerythrozyten. Ergebnis: g = Congl. max. starke Hämolys; p und v = glatte Hämolys; keine Spur von Konglutination.

Ergebnis: Das Serum des Variola vaccina-Rindes zeichnete sich wie das Pestrinderserum durch vollkommenen Konglutininschwund aus.

Bei den diesem Protokoll vorausgegangenen Vorversuchen fiel besonders die große Resistenz der Menschenblutkörperchen gegenüber dem Hundeserum auf: Nur in den allergrößten Dosen (0,5 ccm) konnte das Hundeserum eine mäßige Hämolys der Menschenblutkörperchen hervorrufen. Durch kleinere Serummengen, welche in kürzester Zeit die völlige Hämolys der Meerschweinchen- und Hammelblutkörperchen zur Folge hatten, wurden die Menschenerythrozyten völlig ungeschädigt gelassen.

30. VP. Es gelangten 8 Tage alte Sera g und p zur Untersuchung, und zwar nach Schema I, II und III (Meerschweinchenblutkörperchen resp. sensibilisierte Hammelblutkörperchen, Hundealexin); ferner wurde die

Kombination Meerschweinchenkomplement—sensibilisierte Hammelerythrozyten (2-fache Ambozeptordosis) versucht.

Ergebnisse: 1) Das Rinderserum bewahrte in diesem Falle noch nach 8 Tagen die Fähigkeit, allein in größeren Dosen die Meerschweinchenerythrozyten zu konglutinieren.

2) Doch war diese Konglutination unvollständig und fragil und ließ lange auf sich warten (deutlich erst nach 2 Stunden).

3) Auch das komplettierende Hundeserum allein reichte bei Anwendung der nicht sensibilisierten Meerschweinchenerythrozyten nicht aus, da hierbei die Konglutination in den Röhrchen mit den kleinen Serum-mengen nur mangelhaft und verspätet erfolgte.

4) Die Anwendung sensibilisierter Hammelerythrozyten unter Zuhilfenahme des Hundealexins (Schema III) erwies sich auch hier allen anderen angewandten Kombinationen überlegen.

31. VP. enthält ausschließlich Studien über das Schwanken im Konglutiningehalte peripneumoniekranker Rinder.

Fall I (Versuch II und IV). 2-jähr. Rind, infiziert durch subkutane Einverleibung von 10 ccm Peripneumonielymphe am 25. III. 1919.

Temp.-Tabelle von Fall I.

- 6. IV. 39,5, Oedem
- 7. IV. 39,2/40,2
- 8. IV. 39,8/39,9, Blutentnahme (siehe Versuch II)
- 9. IV. 39,5 40,0
- 10. IV. 39,2/39,6
- 11. IV. 39,4/38,4
- 12. IV. 39,1/39,2
- 13. IV. 38,9/39,2
- 14. IV. 38,8/39,8
- 15. IV. 39,0 39,3, Blutentnahme (siehe Versuch IV)
- 16. IV. 38,7/39,0, Uebergang in Genesung.

Fall II (Versuch I und III). 2-jähr. Rind, infiziert auf gleiche Weise am 25. III. 1919.

Temp.-Tabelle von Fall II.

- 4. IV. Oedem
- 5. IV. Oedem vergrößert
- 6. IV. 38,8/39,9
- 7. IV. 39,7/40,5, Blutentnahme (siehe Versuch I)
- 8. IV. 40,3/40,4
- 9. IV. 40,0/41,3
- 10. IV. 40,2, Abends entblutet.

1. Versuch. Serum: Fall II = b. Als Kontrolle kam ein gleichzeitig unter denselben Bedingungen entnommenes Serum eines gesunden Rindes „a“ in Anwendung. Der Versuch wurde etwa 4 Stunden nach den Blutentnahmen ausgeführt. Als Indikatoren dienten a) Menschen, b) Meerschweinchen, c) Hammelerythrozyten (Schema I).

Resultat nach 2 Stunden:

Serum a. 1) Menschenerythrozyten in allen Röhrchen maximale Konglutination mit gegen 4 zunehmender Hämolyse. 2) Meer-

schweinchenerythrozyten. In allen Röhrchen Congl. max. und maximale Hämolysse. 3) Hammelerythrozyten. Röhrchen 4, 3 starke Konglutination, in 2, 1 nicht nachweisbar.

Serum b. 1) Menschenerythrozyten in 4 Hämagglutination, alle andern Röhrchen homogen getrübt. 2) Meerschweinchenerythrozyten. Totale Hämolysse ohne Spur Niederschlag oder Flockung. 3) Hammelerythrozyten. In allen 4 Röhrchen homogene Trübung.

2. Versuch. Serum: Fall I = b. Serum eines gesunden Tieres = a (als Kontrolle) untersucht. Als Indikatoren kamen 1) Hammel-, 2) Menschen-, 3) Meerschweinchen- und 4) Hundeerythrozyten in Anwendung (Schema I).

Versuchsergebnis nach 2 Stunden:

1) Hammelerythrozyten: nirgends Hämolysse, nur in a₃ und a₄ deutliche, resp. maximale Konglutination.

2) Menschenerythrozyten: in a) und b) ansteigende Hämolysse; in b) stärker; in allen a-Röhrchen Conglutinatio maxima; in allen b-Röhrchen nicht die Spur einer solchen.

3) Meerschweinchenblut: maximale Hämolysse unterschiedslos in allen 8 Röhrchen; in allen a-Röhrchen Conglut. maxima; in allen b-Röhrchen nicht die Spur einer solchen.

4) Hundeerythrozyten: nirgends Hämolysse, in den Röhrchen mit den größeren Serumdosen leichte fragile Hämagglutination, unterschiedslos in a) und b) nirgends Konglutination.

3. Versuch (11. IV.). Das Serum des mit Peripneumonie infizierten Rindes (Fall II vom 8. IV.) wurde mit seinem entsprechenden Kontrollserum „gesund“ untersucht. Als Alexin kam frisches Hundeserum, als Indikator sensibilisierte Hammelblutkörperchen in Anwendung (Schema III). Ergebnis: In allen 4 Röhrchen „gesund“ Conglutinatio maxima, Hämolysse mittleren Grades; in allen Röhrchen „Peripneumonie“ starke Hämolysse, ohne Spur von Konglutination.

4. Versuch (15. IV.). Es gelangte das Serum des mit Peripneumonie infizierten Rindes (Fall I) zur Zeit der Rekonvaleszenz zur Untersuchung. Als Kontrolle kam gesundes Rinderserum in Anwendung. Indikatoren: Meerschweinchen-, Menschen-, Schweine- und Sperlingserythrozyten (Versuchsanordnung nach Schema I).

Resultat nach 2 Stunden:

Sowohl in bezug auf Hämolysse wie auf Konglutination verhielten sich die beiden Sera fast völlig gleich. Die Schweineerythrozyten wurden sogar nur durch das Peripneumonie-Rekonvaleszentenserum, allerdings bloß in der höchsten Dosis (0,5 ccm) deutlich zusammengeballt.

Ergebnisse: 1) Bei peripneumoniekranken Rindern ist schon am 2. resp. 3. Fiebertag Konglutininschwund nachweisbar.

2) Geht die Krankheit in Genesung über, so werden die Konglutinine wieder gebildet, und sind trotz der noch nicht vollendeten Ent-

fieberung schon reichlich im Blute nachweisbar (in einer Menge, die vielleicht den gewöhnlichen Konglutinationsgehalt des normalen Rinderserums übertrifft).

3) Schweineblutkörperchen zeigen gegenüber dem Rinderkolloid eine beträchtliche Resistenz.

4) Sperlingsblutkörperchen werden durch das Rinderserum zwar langsam, aber intensiv zusammengeballt.

Dem Tierarzt Herrn B. P. Podkopaew, welcher mir in freundlicher Weise Peripneumonieserum zukommen ließ, und mich mit den nötigen Daten aus der Krankengeschichte der Tiere versah, spreche ich an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank aus.

32. VP. enthält ausschließlich Vorversuche mit dem Serum eines gegen Menschenerythrozyten immunisierten Kaninchens. Da die starke hämagglutinierende Wirkung des Immunserums bei allen Versuchsanordnungen sehr deutlich hervortrat, und sich die Anwendung des spezifischen Ambozeptors des Kaninchens für Menschenerythrozyten bei Konglutinationsversuchen demnach als ungeeignet erwies (vgl. VP. 35), sei auf die diesbezüglichen Versuche nicht näher eingegangen.

33. und 34. VP. Es wurden gleichzeitig die Sera folgender Tiere entnommen: 1) pestkrankes Rind, 2) gesundes, pestimmunisiertes Rind, 3) gesundes Kamel, 4) gesundes Pferd. Ferner wurden folgende Blutkörperchen frisch entnommen und gewaschen: 1) Menschen-, 2) Pferde-, 3) Hammel-, 4) Kamel-, 5) Rinder-, 6) Kaninchen-, 7) Meerschweinchen-, und 8) Sperlingerythrozyten.

Mit diesen Blutbestandteilen wurden in verschiedenen Kombinationen Hämagglutinationsversuche angestellt.

Ergebnisse:

1) 6 Stunden altes natives Serum von *Camelus bactrianus* hämagglutiniert maximal die Erythrozyten vom Kaninchen, beträchtlich die Erythrozyten von Mensch und Pferd, spurweise die vom Hammel, in keiner Weise die eigenen und die vom Rind; keine der angewandten Erythrozytenarten wurden auch nur die Spur hämolysiert. Bei Anwendung von altem, teils nativem, teils inaktiviertem Kamelserum, das mit 10 Proz. Hundealexin komplettiert wurde, erhielt man ganz ähnliche Resultate (die Rindererythrozyten kamen hier nicht zur Untersuchung). Die bei dieser Versuchsanordnung in Anwendung gebrachten Sperlings- und Meerschweinchenerythrozyten wurden nicht hämagglutiniert.

2) Das als Komplement in der Dosis 0,05 ccm in Anwendung gebrachte Hundealexin agglutinierte in den dazugehörigen Vorversuchen allein in der Dosis 0,3 ccm keine der angewandten Erythrozytenarten merklich, hämolysierte dagegen stark die Hammel-, Kamel-, Rind-, Kaninchen-, Meerschweinchen- und Sperlingerythrozyten. Die Menschenblutkörperchen wurden nur spurweise, die Pferdeerythrozyten mittelstark hämolysiert.

3) Frisches Pferdeserum übt nach 2-stündiger Einwirkung auf Kamelerythrozyten weder eine hämolysierende noch eine hämagglutinierende Wirkung aus¹⁾.

4) Pferdeerythrozyten werden sowohl von Rinderpest- wie Rinderimmunserum stark zusammengeballt, kleben sich aber nur beim gesunden Rinderserum fest an die Epruvettenränder in Form eines Häutchens an.

5) Kamelerythrozyten werden nur vom Rinderimmunserum maximal konglutiniert, während Rinderpestserum dieselben sichtlich in keiner Weise verändert (guter Indikator für Konglutinationsversuche!).

6) Die im Sperlingsblut zahlreich vorhandenen weißen Blutelemente wirken störend auf das Versuchsergebnis; daher ist ihre vorherige Abheberung von den nach dem Zentrifugieren sedimentierten Erythrozyten notwendig.

7) Das Serum des rinderpestkranken Rindes konnte keine der in Anwendung gekommenen Blutkörperchenarten konglutinieren.

35. VP. I. Es kam das Serum eines gesunden Pferdes und das eines gesunden Rindes (beide Sera vor 10 Tagen entnommen) zur Untersuchung. Als Alexin wurde frisches Menschenserum, als Indikator wurden Menschenblutkörperchen, als Ambozeptor Menschenerythrozytenimmunserum vom Kaninchen (siehe VP. 32) angewandt. Versuchsanordnung A nach Schema III (sensibilisierte Menschenerythrozyten), Versuchsanordnung B nach Schema II (native Menschenerythrozyten).

Resultat am nächsten Morgen. Pferdeserum: starke Zusammenklumpung der sensibilisierten, schwache Zusammenklumpung der nicht sensibilisierten Erythrozyten. H-Rinderserum²⁾: maximale Zusammenklumpung der sensibilisierten, deutliche, nach Röhrchen 4 hin zunehmende der nicht sensibilisierten Erythrozyten. Hämolysen deutlich in Röhrchen 3, beträchtlich in Röhrchen 4.

II. wie I., nur an Stelle des 10-proz. Menschenalexins 10-proz. Hundealexin.

Resultate ähnlich, nur werden die nicht sensibilisierten Erythrozyten viel stärker (auch in den Röhrchen 1 und 2) zusammengeballt.

III. Es kamen 10 Tage alte Sera p und g zur Untersuchung. Es enthielten

1) Katzenerythrozyten werden vom Pferdeserum nach 2 Stunden nicht, nach 12 Stunden stark hämagglutiniert (VP. 43). Hunde- und Menschenerythrozyten werden schon nach 2 Stunden maximal zusammengeballt (VP. 41 u. a. im Originale). Sperlingerythrozyten werden nach 2 Stunden sowohl von aktivem als inaktivem Pferdeserum gleichstark hämagglutiniert (VP. 36 im Original und 40), keine Hämolysen. Ueber die Wirkung des Pferdeserums auf andere Blutarten vergleiche auch Riblings Tabellen a. a. O.

2) Während es beim gesunden Rinderserum außerdem stets zur Konglutinationshäutchenbildung kam, war ein solches beim Pferdeserum niemals wahrnehmbar.

| Röhrchen | Rinder- pest- serum | ge- sundes Rinder- serum | physio- logisch. Koch- salzslg. | 10 % Hunde- alexin | 10 % Men- schen- alexin | nach 1 Std. spez. Ambo- zeptor + 5 % Menschen- erythrocyt. ää | Ergebnis |
|----------|---------------------------|-----------------------------------|--|--------------------------|----------------------------------|---|---------------------------|
| 1 | 0,3 | | 0,7 | 0,5 | | 1,0 | H + C — A + ¹⁾ |
| 2 | 0,3 | | 0,7 | | 0,5 | 1,0 | H — C — A + |
| 3 | | 0,3 | 0,7 | 0,5 | | 1,0 | H ++ C + + + + |
| 4 | | 0,3 | 0,7 | | 0,5 | 1,0 | H + C + + + + |

Am nächsten Tage bemerkt man fragile Agglutination (vgl. VP. 32).

Ergebnis: Mehr oder weniger störende hämagglutinierende Nebenwirkung des spezifischen Ambozeptors für Menschenerythrocyten.

36. V P. Verschiedene Versuche mit 14 Tagen alten Kamel- und Rinderseris g und p, unter Komplettierung mit Pferde- und Hundeserum und unter Anwendung von sensibilisierten Hammel-, nativen Kaninchen-, Meerschweinchen- und Sperlingserythrocyten als Indikatoren: In allen Versuchsanordnungen erwies sich das Hundeserum dem Pferdealexin gegenüber überlegen.

37. V P. Versuche mit Immunsorum für Meerschweinchenerythrocyten unter Anwendung verschiedener Komplemente: Starke hämagglutinierende Wirkung des Immunsorums ²⁾, welche der Konglutination zuvorkommt, außerdem übermäßige Hämolyse der sensibilisierten, ohnedies fragilen Meerschweinchenerythrocyten (Details im Originale).

38. V P. Enthält Untersuchungen über den Einfluß der Filtration durch Chamberlandfilter auf den Konglutiningehalt nativen frischen und 16 Tage alten Rinderserums. Versuchsanordnungen nach Schema I, II und Schema III, Hundealexin, Indikatoren: Menschen- und Meerschweinchenerythrocyten teils nativ, teils sensibilisiert, sensibilisierte Hammelerythrocyten. Versuchsergebnisse siehe Kap. I.

39. V P. Versuche mit Froscherythrocyten als Indikator; Rinder-sera p und g, Schema I, als Kontrolle Meerschweinchenerythrocyten.

Ergebnis: Während bei Anwendung von Meerschweinchenerythrocyten die Reaktion in allen Röhrchen rasch und einwandfrei erfolgte ($g_1 - g_4$ C + + + +, $p_1 - p_4$ C —), störte bei Anwendung von Froscherythrocyten die nachfolgende Hämagglutination, namentlich in den Röhrchen p_3 und p_4 das Versuchsergebnis. Deutlicher Unterschied in den 1er-Röhrchen ($g_1 = C + + + (+)$, $p_1 = C —$). Am anderen Morgen waren auch in den Röhrchen p_2 und p_3 die Froschblutkörperchen zu ziemlich festen Klumpen zusammengeballt.

1) Die schwache Körnelung rührt von der Agglutination durch den spezifischen Ambozeptor her.

2) Die Zusammenballung der Meerschweinchenerythrocyten tritt bei Anwendung größerer Dosen (0,3 ccm) frischen Immunsorums unter Schütteln auch bei Zimmertemperatur schon nach wenigen Sekunden ein.

40. V P. Frisches Pferdeserum teils aktiv, teils inaktiviert ($\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° C) auf native, sensibilisierte Menschenerythrozyten und Sperlingsblutkörperchen einwirkend. Versuchsanordnung nach Schema II resp. Schema III (spez. Ambozeptor 1:300).

Ergebnisse: 1) Frisches Pferdeserum hat gegenüber sensibilisierten Menschenerythrozyten starke hämagglutinierende Wirkung, keine Spur von Hämolyse.

2) Auch inaktiviertes Pferdeserum (ohne Komplement!) behält einen Teil seiner hämagglutinierenden Wirkung gegenüber sensibilisierten Menschenblutkörperchen.

3) Die hämagglutinierende Wirkung gegenüber Sperlingserythrozyten ist gleich stark im nativen wie im inaktivierten Pferdeserum (A++++ in allen 8 Röhrchen).

41. V P. I. Es wurden die 24 Stunden alten Rindersera p und i in ihrer Wirkung gegenüber verschieden stark sensibilisierten Hammelblutkörperchen geprüft (Titer des hämolytischen Ambozeptors 1: 900 bei Anwendung von 0,05 Meerschweinchenkomplement). Die Röhrchen enthielten: physiologische Kochsalzlösung 1,4, Rinderserum 0,1, 5 Proz. Hammelerythrozyten 0,5, hämolytischen Ambozeptor 0,5 ccm. Resultat nach 2 Stunden:

Die Hämolyse erfolgte in den entsprechenden i- und p-Röhrchen völlig unterschiedslos, und zwar ellmählich mit sinkender Dosis des spezifischen Ambozeptors abnehmend. Die Röhrchen p zeigten in keiner der angewandten Ambozeptorverdünnungen (von 1:100 bis 1:8000) Agglutination resp. Konglutination. Die Röhrchen i hingegen zeigten maximale Konglutination, welche infolge der sinkenden Hämolyse namentlich bei steigenden Ambozeptorverdünnungen (1:300—1:1500) besonders deutlich zur Anschauung gebracht wurde.

Ergebnisse: 1) Die beiden Rindersera übten in gleich starker Weise auf die sensibilisierten Hammelerythrozyten eine hämolysierende Wirkung aus. 2) Die Konglutination vollzog sich bei den stark und schwach sensibilisierten Hammelerythrozyten in ziemlich gleicher Weise.

II. Es wurde frisches, 2 Stunden altes Pferdeserum auf seine hämagglutinierende Wirkung gegenüber Hunde-, Menschen- und Hammelerythrozyten geprüft.

Ergebnis: Auf Hunde- und Menschenerythrozyten übt Pferdeserum starke hämagglutinierende Wirkung aus, während die Hammelerythrozyten nicht agglutiniert werden.

III. Komplettierung der 2 Tage alten Rindersera i und p mit Meerschweinchen- und Pferdekompement. Indikatoren: Hunde- resp. Menschenerythrozyten.

Ergebnisse: 1) Die Anwendung des Meerschweinchenkomplementes empfiehlt sich bei der Verwendung von Menschenerythrozyten als Indikator nicht, da dasselbe die Menschenblutkörperchen hämagglutiniert.

2) Pferdeserum ist bei dieser Kombination völlig unbrauchbar infolge seiner starken hämagglutinierenden Eigenschaften.

3) Die Hundeerythrozyten zeigten in keiner der angewandten Versuchsanordnungen die Phänomene der Konglutination (sie wurde in den größten Serumdosen leicht hämagglutiniert, und zwar durch Serum p stärker als durch Serum i!).

42. V P. Es wurde das Serum eines an chronischer Dysenterie leidenden Kalbes¹⁾ k und als Kontrolle das Serum eines normalen gleichaltrigen Kalbes g auf seine konglutinierenden Eigenschaften gegenüber 1) Menschen-, 2) Meerschweinchenerythrozyten geprüft. Versuchsanordnung nach Schema I.

Nach 30 Minuten:

1. Menschenerythrozyten

| Serum k | | Serum g | |
|---------|----|----------|-------|
| 1. H— | C— | 1. H+ | C++++ |
| 2. H+ | C— | 2. H++ | C++++ |
| 3. H++ | C— | 3. H+++ | C++++ |
| 4. H+++ | C— | 4. H++++ | C++++ |

2. Meerschweinchenerythrozyten

| Serum k | | Serum g | |
|----------|----|----------|-------|
| 1. H— | C— | 1. H+++ | C++++ |
| 2. H+++ | C— | 2. H++++ | C++++ |
| 3. H++++ | C— | 3. H++++ | C++++ |
| 4. H++++ | C— | 4. H++++ | C++++ |

Nach 2 Stunden war die Hämolyse der Menschenerythrozyten durch beide Rindersera noch weiter vorgeschritten, die Hämolyse der Meerschweinchenerythrozyten unterschiedslos in allen 8 Röhrchen vollendet. Serum k zeigte keine Spur, Serum g maximale Konglutination.

Ergebnisse: 1) Die hämolysierenden Fähigkeiten des Dysenterieserums waren ungefähr gleich denen des normalen Serums.

2) der Gehalt an Konglutininen war im Dysenterieserum auf Null herabgesunken.

3) Der Gehalt an Konglutininen im Serum des 2 Monate alten gesunden Kalbes entsprach völlig dem des erwachsenen Tieres (vgl. VP. 4 u. 6).

43. V P. Anwendung von Katzenerythrozyten in verschiedenen Versuchsanordnungen. Ergebnisse: 1) Die Katzenerythrozyten sind der Konglutination durch normales Rinderserum schwer zugänglich.

2) Sie werden jedoch von den Rinderseris g und p unterschiedslos nicht unbeträchtlich hämagglutiniert.

3) Hundeserum hat auf Katzenerythrozyten weder hämolysierende noch hämagglutinierende Wirkung.

4) Altes Pferdeserum hämagglutiniert Katzenerythrozyten sehr stark, aber erst nach Verlauf einiger Stunden.

1) Das 2 Monate alte Kalb litt bereits über 4 Wochen an Durchfällen. Es war zur Zeit der Blutentnahme schon äußerst herabgekommen. Sein Tod erfolgte 4 Tage nachher an Inanition. Das Tier war stets fieberfrei.

44. VP. I. Es wurden von 10 Tage altem Immunrinderserum 5 Tage vor Versuchbeginn je 3 ccm in 2 Röhrchen abgegossen; das eine Röhrchen wurde in einem Thermostaten mit der Durchschnittstemperatur von 37°C , das 2. in einem Thermostaten bei $40-41^{\circ}\text{C}$ gehalten. Nach 3-tägigem Verweilen in den Thermostaten wurden die Röhrchen herausgenommen und weiter bei Zimmertemperatur mit der Originalflasche¹⁾, welche das Serum mit dem Blutkuchen enthielt, bis zum Versuche aufbewahrt. Drei Versuchsreihen:

- a) Aufsteigende Serummengen aus der Originalflasche,
- b) Serum aus der Epruvette, die 3 Tage lang bei normaler Bruttemperatur aufbewahrt wurde und
- c) das Serum der Epruvette welche 48 Stunden der Temperatur von $40-41^{\circ}\text{C}$ ausgesetzt war.

Schema III (Hundealexin, sensibilisierte Hammelerythrozyten).

Resultat nach 2 Stunden:

Versuchsreihe a): leichte Hämolyse, maximale Konglutination.

Versuchsreihe b) und c): maximale Hämolyse, keine Konglutination.

Ergebnis: Durch das 3 Tage lange Verweilen der Sera im Brutschrank wurden die Konglutinine vernichtet.

II. Es wurde 3 ccm frisches Rinderimmunserum mit 1 ccm konzentrierten Hammelerythrozyten versetzt und diese Mischung plus 6 ccm physiol. Kochsalzlösung im Thermostaten bei 37°C belassen. Die Wände des Gefäßes beschlugen sich mit den konglutinierten Blutkörperchen, nach dem Abschlagen bildeten sich große Klumpen, doch blieb die Flüssigkeit stark homogen getrübt, was ein Beweis dafür ist, daß das ganze Konglutinin an die Blutkörperchen gebunden wurde. Nach $1\frac{1}{2}$ -stündigem Verweilen im Thermostaten wurde zentrifugiert und der Abguß mit 5 Proz. Meerschweinchenerythrozyten versetzt. Als Kontrolle wurde dasselbe unvorbehandelte Immunserum verwendet. Da sich die Abgußflüssigkeit zum nativen Serum in bezug auf Verdauung wie 1:3 verhielt, wurde die 3-fache Quantität des Abgusses gewählt. Schema I.

Ergebnisse: 1) Durch die Vorbehandlung des frischen Rinderserums mit den Hammelerythrozyten wurde das Komplement nicht vernichtet; es ließ sich im Abgusse durch prompte Hämolyse der zugefügten Meerschweinchenerythrozyten nachweisen.

2) Nach der Vorbehandlung mit den Hammelblutkörperchen verlor das Serum vollkommen sein Konglutinin; die Meerschweinchenblutkörperchen wurden vom Abgusse nur noch spurweise hämagglutiniert; daraus läßt sich schließen, daß

- a) das Konglutinin nicht spezifisch ist,
- b) daß die Hämagglutinine sich spezifisch verbinden, denn im Abgusse bestand noch die schwach hämagglutinierende Wirkung gegenüber den Meerschweinchenblutkörperchen, welche zu feinsten schwebenden Flöckchen oder Körnchen hämagglutiniert werden.

1) Die Originalflasche stand während der ganzen Zeit bei 10° im Dunkeln aufbewahrt.

III. Es wurde ein 18 Tage altes Immunserum i mit frischem Pestserum p in der Dosis 0,1 ccm komplettiert, das Gemisch 1 Stunde im Thermostaten bei 37° C beisammen gelassen und hierauf 5-proz. Menschen- resp. Meerschweinchenblutkörperchen-Aufschwemmung hinzugefügt (Schema II). Als Kontrollen kam das alte Immunserum i ohne Komplement und das frische Rinderpestserum allein in denselben aufsteigenden Dosen in Anwendung.

Nach 15 Minuten Menschenblutkörperchen: In allen Röhrchen der Kombination beider Sera typisches Konglutinationshäutchen. In keinem der anderen 8 Röhrchen auch nur Spuren von Konglutination. Meerschweinchenblutkörperchen: In den Pestserumröhrchen totale Hämolyse ohne Spur von Agglutination. In den Röhrchen 3, 4 des alten Immunserums ohne Komplement beginnende Konglutination. In der Kombination beider Sera in Röhrchen 1—4 maximale Konglutination vollendete Hämolyse.

Resultat nach 2 Stunden:

| a) Pestserum | b) altes Immunserum | c) Kombination |
|-----------------------------------|---------------------|----------------|
| 1. Meerschweinchenblutkörperchen. | | |
| 1. H++++ C— | 1. H++(+) C+ | 1. H++++ C++++ |
| 2. H++++ C— | 2. H++++ C++++ | 2. H++++ C++++ |
| 3. H++++ C— | 3. H++++ C++++ | 3. H++++ C++++ |
| 4. H++++ C— | 4. H++++ C++++ | 4. H++++ C++++ |
| 2. Menschenblutkörperchen. | | |
| 1. H— C— | 1. H— C— | 1. H± C++++ |
| 2. H+ C— | 2. H— C(A)± | 2. H+ C++++ |
| 3. H+++ C— | 3. H— C(A!)± | 3. H++ C++++ |
| 4. H++++ A± | 4. H— C+++ | 4. H++ C++++ |

Ergebnisse: 1) Das frische Pestserum eignete sich sehr gut zur Aktivierung alten Immunserums.

2) Das 18 Tage alte Immunserum¹⁾ hatte gegenüber Menschen- und Meerschweinchenerythrozyten seine konglutinierende Wirkung noch nicht völlig eingebüßt.

45. V P. enthält Versuche mit frischen Enten- und Adlererythrozyten. Als Sera gelangte zur Anwendung frisches Pferdeserum, Serum p und i in frischem Zustande.

Ergebnisse: 1) Starke Hämagglutination der Entenerythrozyten sowohl durch das aktive als auch durch das inaktivierte Pferdeserum.

2) Infolge ihrer starken Hämagglutination durch die Rindersera sind Enten- und Adlererythrozyten für die Konglutationsreaktion völlig unbrauchbar. [Bei den Entenerythrozyten ist der Unterschied zwischen Kon-

1) Es wurde in der Originalflasche mit seinem Blutkuchen zusammen im Dunkeln bei 5° C aufbewahrt.

glutination (Serum i) und Hämagglutination (Serum p) ausschließlich an dem Vorhandensein resp. Fehlen des an den Wänden adhärierenden Häutchens zu erkennen.]

3) Rinderserum hat gegenüber Entenerythrozyten nur schwache oder gar keine hämolysierende Kraft.

46. V P. Versuche mit Wolferythrozyten, gewonnen aus der Herzkammer einer wutkranken, trächtigen Wölfin. Schema 1.

Ergebnis: Wolferythrozyten lassen sich von Rinderserum nicht die Spur konglutinieren. Keine Hämolysen.

Zusammenfassung.

1) Bei schweren Allgemeinerkrankungen des Rindes, gleichgültig, ob fieberhaft oder nicht, sinkt der Konglutininhalt im Serum auf Null herab, ohne daß die übrigen Serumqualitäten verändert zu sein brauchen.

2) Geht die Krankheit in Genesung über, so treten noch vor der gänzlichen Entfieberung die Konglutinine wieder in normaler Menge im Blute auf.

3) Von den von mir für die Konglutinationsreaktion angewandten Alexinen (Menschen-, Pferde-, Meerschweinchen-, Kaninchen-, Hundeserum) erweist sich das Hundeserum als das vorteilhafteste: relative Haltbarkeit, Fehlen hämagglutinierender Eigenschaften, starke Wirkung in kleiner Dosis, geringe individuelle Schwankungen usw.

4) Das früher zur Konglutinationsreaktion fast ausschließlich angewandte Pferdealexin hat zahlreiche Nachteile (vor allem starke Hämagglutination gegenüber den meisten Erythrozytenarten, bedeutende individuelle Schwankungen, sehr geringe Haltbarkeit, Wirkung nur in relativ großen Dosen usw.).

5) Der störendste Faktor für die Konglutinationsreaktion ist nicht die Hämolysen durch das Alexin, sondern weit störender ist das Vorhandensein einer hämagglutinierenden Komponente in der Versuchsanordnung.

6) Die wesentlichsten augenfälligen Unterschiede zwischen Hämagglutininen und Konglutininen sind folgende:

a) die Konglutination tritt rascher ein als die Hämagglutination.

b) Bei echter Konglutination adhäreren die Blutkörperchen stets in Form eines häutchenartigen Beschlages fest an den Wänden der Eprouvete, von welcher sie sich erst nach kräftigem Schütteln in Form von Fetzen abschlagen lassen, während dieses Phänomen bei bloßer Hämagglutination nie stattfindet. Die Hämagglutination merkt man zuerst daran, daß in der Flüssigkeit Körnchen auftreten, welche sich, allmählich größer werdend, auf den Röhrchenboden herabsenken und sich dort in Form von Klümpchen völlig lose anlegen.

c) Der durch echte Konglutination gebildete Klumpen ist gegen Schütteln bedeutend widerstandsfähiger als der durch bloße Hämagglutination gebildete.

d) Das Schütteln der Röhrchen fördert die Konglutination, während es auf die Hämagglutination keinen oder einen nachteiligen Einfluß hat.

7) Von den von mir untersuchten Erythrozytenarten (Mensch, Pferd, Kamel, Hammel, Schwein, Hund, Wolf, Katze, Kaninchen, Meerschweinchen, Sperling, Ente, Adler, Frosch) erweisen sich als beste Indikatoren für die Konglutinationsreaktion Menschen-, Kamel-, Hammel- und Meerschweinchenerythrozyten. Die übrigen Blutkörperchenarten werden entweder zu stark und leicht hämagglutiniert (z. B. Vogel- und Kaninchenerythrozyten) oder sind der Konglutination gegenüber sehr widerstandsfähig resp. unzugänglich (die Erythrozyten des Hundes, des Wolfes, der Katze, des Schweines); die meisten Blutelemente werden nicht konglutiniert.

8) Mit Hilfe der Konglutinationsreaktion lassen sich die verschiedenen Blutkörperchenarten differenzieren: Jede Erythrozytenart weist in bezug auf das adhärerende Häutchen, das Aussehen der Flocken, den resultierenden Klumpen, der Art des Auspressens des Hämoglobins usw. ihre bestimmten Eigenheiten auf.

9) Sensibilisierte Erythrozyten werden leichter und schneller konglutiniert: altes alexiniertes Rinderserum, welches schon nicht mehr imstande ist, native Erythrozyten zu konglutinieren, konglutiniert noch deutlich sensibilisierte Erythrozyten.

10) Stark sensibilisierte Erythrozyten dürfen bei der Konglutinationsreaktion nicht angewandt werden, da sie oft beträchtlich hämagglutiniert werden.

11) Einmaliges Gefrieren- und Wiederauftauenlassen hat keinen Einfluß auf die Umlagerung der Konglutinine, hingegen konzentriert sich dieser Serumbestandteil nach häufigem Gefrierenlassen und Wiederauftauen völlig in der untersten Flüssigkeitsschicht.

12) Röntgenstrahlen, bis 15 Minuten lang einwirkend, lassen die Konglutinine unbeeinflusst.

13) Die Konglutinine konservieren sich länger und besser, wenn das Rinderserum mit dem Blutkuchen zusammen aufbewahrt wird, als wenn man das Serum abpipetiert und allein aufbewahrt.

14) Durch tagelanges Verweilen von Rinderserum bei hoher Bruttemperatur (39°C) verliert dasselbe allmählich seinen Gehalt an Konglutininen.

15) Hingegen werden die Konglutinine durch langes Aufbewahren (über 2 Monate) der Sera bei Zimmertemperatur nicht vernichtet.

16) Leichte Fäulnis zerstört die Konglutinine nicht völlig.

17) Der Prozeß der Inaktivierung hat einen schädlichen Einfluß auf die Konglutinine.

18) Auch bei sehr niedrigen (nahe an 0°C liegenden) Temperaturen vollzieht sich die Reaktion der Konglutination.

19) Als beste Kombination erwies sich bei alten, ihres Alexins verlustig gegangenen Rinderseris folgende: Rinderserum in den Dosen 0,1—0,5 ccm, alexiniert mit Hundeserum in 10-proz. Verdünnung: 0,5 ccm, physiologische Kochsalzlösung, auf 1,5 ccm Flüssigkeit ergänzend; nach 1 Stunde Hinzufügen von 1,0 ccm sensibilisierter Hammelblutkörperchen und spezifischen Ambozeptor (von immunisierten Kaninchen) ää.

Nachdruck verboten.

[Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Marburg
(Direktor: Prof. Ed. Müller).]

Erfahrungen mit der „serologischen Karzinomdiagnose“¹⁾.

Von **R. Wigand.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 26. Juli 1922.)

In No. 51 des Zentralbl. f. Chir. des Jahres 1919 beschreibt O. Boyksen „eine Intrakutanreaktion bei adenogenem Karzinom des Darmtrakts“ mit einem von Abderhalden angegebenen und von den Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co. (Leverkusen bei Köln a. Rh.) hergestellten Karzinomheilserum. Boyksen nahm, um die gewaltige, von ihm in No. 4 der Münch. med. Wochenschr. des Jahres 1919 mitgeteilte Einwirkung des Abderhaldenschen Krebsheilserums auf den menschlichen Körper zu umgehen, an Stelle der zu therapeutischen Zwecken jeweils benutzten Serummenge von 20 ccm eine 10- bis 20fach geringere Dosis des Serums und führte ohne Gefährdung des Kranken bei intrakutaner Anwendung im kleinen ähnliche Erscheinungen herbei, die sich mehr örtlich abspielten. Diese Erscheinungen sollen nach seinen Beobachtungen den Charakter gesetzmäßiger Vorgänge tragen und in praktischer Hinsicht diagnostisch verwertbar sein.

Auf Anregung von Herrn Prof. Eduard Müller wurde mir die Aufgabe, die Ergebnisse Boyksens an dem in den hiesigen Krankenanstalten vorhandenen Karzinommaterial nachzuprüfen und zu ergänzen. Die ersten Untersuchungen an 13 Karzinomkranken und 8 sicher nicht karzinomatösen Kranken (zu Kontrollzwecken) mit 8 von den Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co., Elberfeld, hergestellten Seren wurden von mir bereits im Centralblatt f. innere Med., 1920, No. 46 („Erfahrungen mit der serologischen Karzinomdiagnose“) be-

1) Infolge der derzeitigen Schwierigkeiten in der Druckherstellung ist die Beigabe der Tabellen unmöglich geworden. Lichtdruckpausen der Tabellen sind vom Verfasser direkt gegen Einsendung des Portos unentgeltlich zu beziehen.

schrieben. Diese Ergebnisse müssen der Vollständigkeit halber auch hier berücksichtigt werden, so daß ich im folgenden über meine Erfahrungen mit 74 Intrakutanimpfungen bei Anwendung von 28 verschiedenen Serumarten nach der Boyksenschen Methode berichte. Geprüft wurden insgesamt 39 karzinomatöse und 35 andere Patienten als „Kontrollen“, die zum Teil auch karzinomverdächtig waren.

Bevor ich auf die klinischen Beobachtungen eingehe, ist einiges über die Art der Karzinomserum-Gewinnung zu sagen.

Unter den angewandten „Seren“ sind prinzipiell zwei Gruppen scharf hinsichtlich ihrer Herstellung und ihres Charakters zu unterscheiden.

I. Gruppe A.

Diese Gruppe wird gewonnen durch Vorbehandlung von Versuchstieren mit menschlichen Krebszellen; vorwiegend Pferde, daneben Hämmel. Es wird dadurch im tierischen Organismus eine Umstellung des Serums im Sinne etwa der Bildung von Abbauf fermenten bezweckt gegen das eingeführte artfremde Eiweiß der menschlichen Karzinomzellen. Dadurch dachte Abderhalden ein wirksames therapeutisches Mittel gegen das Karzinom herzustellen. Das sogenannte Karzinomheilserum hatte indes nicht den gewünschten Erfolg; es kann aber zu diagnostischen Zwecken verwandt werden. Die Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co. stellten dazu eine Reihe von Seren her, die hinsichtlich des Ausgangsmaterials voneinander verschieden sind: man berücksichtigte bei der Tierimpfung folgende karzinom-histologische bzw. organologische Gesichtspunkte.

Die 1. Reihe rekrutiert sich aus Seren von Tieren, die mit adenogenem Karzinom des Darmtrakts vorbehandelt wurden. Der 2. Reihe liegen Plattenepithelkarzinome zugrunde, der 3. Reihe weibliche Genitalkarzinome. Die 4. Reihe enthält Mischsera aus 1—3 im Sinne einer Polyvalenz und besteht a) aus einer Mischung beispielsweise von Plattenepithelkarzinom und adenogenem Karzinom (wie Pol 2, Pol 3). b) Aus einem Vorbehandlungsgemisch gleicher Karzinomtypen, von verschiedenen Organen stammend: Karzinom des

Magens, des Dickdarms bzw. der Gallenblase (solide, adenomatöse und gallertige Karzinome). Die 5. Reihe enthält Sera, die mit einem Konservierungsmittel versetzt sind, um festzustellen, ob und wie weit dadurch eine etwaige Aenderung der Wirksamkeit bedingt ist.

Anhang: Die 6. Reihe endlich enthält das Serum eines Tieres, das mit menschlichem Knochensarkom des Oberschenkels vorbehandelt ist.

II. Gruppe B.

Die zweite Gruppe (B) enthält dagegen Injektionsmaterial, das nicht durch den Tierkörper gegangen ist, vielmehr auf chemischem Wege aus Karzinomzellen gewonnen wurde, durch vorsichtigen („Alb.“)¹⁾ sowie stärkeren Abbau („Pept.“) gewonnene Spaltprodukte von Tumoren enthält, die dann durch geeignetes Sterilisieren keimfrei gemacht sind.

Durch die Gruppierung der herstellungsverwandten Sera ist zugleich das Prinzip der diagnostischen Anwendung gegeben. Es wird z. B. erstrebt, ein weibliches Genitalkarzinom mittels eines auf Genitalkarzinomzelleninjektionen hin spezifische „Reagine“ enthaltenden Serums durch Reaktion zu erkennen und ein Plattenepithelkarzinom mittels eines mit Plattenepithelkarzinom vorbehandelten Serums.

Ich ließ jedoch diese Rücksichten bei den Impfungen zunächst beiseite und ging absichtlich wahllos vor, um einen allgemeinen Ueberblick und Eindruck von der Wirksamkeit zu gewinnen und um zugleich die anderen Serumgruppen einer gewissen Kontrolle zu unterwerfen. So spritzte ich Fälle von Cervixkarzinom mit Seren von adenokarzinomatösen Ursprung, desgleichen Oesophaguskarzinom; ein operiertes Kankroid mit ebenfalls adenogen hergestellten Seren — in der Vorstellung, daß nur die Vielzahl der Kombinationen ein Ableiten gesetzmäßiger Erscheinungen gestatte. Auch sah ich bei der Einspritzung von jedem chirurgischen Eingriff und aktinischer Beeinflussung ab. Es bleibt weiteren Studien vorbehalten, den therapeutischen Effekt, d. h. die restlose Entfernung der Karzinomzellen bzw. ihre Virulenzschwächung serologisch zu prüfen.

1) „Alb.“ = Albumosen, „Pept.“ = Peptone.

4 Patienten wurden mit wiederholten Serien gleicher Seren untersucht, um eine etwaige Sensibilisierung des Organismus für die Serumarten festzustellen.

Dieser Sensibilisierungsversuch fiel negativ aus. Leider war es bei den meisten Fällen in Anbetracht des körperlichen Befindens und bei der subjektiven Abneigung der Mehrzahl der Patienten gegen „Spritzen“ nicht möglich, eine größere Anzahl von Ampullen, noch dazu in mehrfachen Serien, im einzelnen Falle zu erproben.

Die Technik der Anwendung war in Uebereinstimmung mit Boyksen folgende:

Antiseptische Vorbereitung des Unterarmes mit Alkohol, Aether oder Aceton. Auskochen der Spritzen und Kanülen bzw. Entkeimen mit Alkohol und Aether. Sodann intrakutane Injektion je einer Serumphiole mit ca. 0,5 ccm Inhalt zur Bildung einer intrakutanen Quaddel. Anfänglich wurde nur eine Serumart injiziert, später mehrere, nach ihrer Herkunft verschiedene Sera, in ungefähr 10 cm Abstand, am selben Gliede, bis zu 4 Injektionen. Bei Reinjektionen wurde der Arm gewechselt.

Der positive Ausfall der Reaktionen zeigte im Bereich der Quaddel jene blutrote Färbung, die Boyksen in die obersten Schichten der Cutis verlegt und auf eine kapilläre Schädigung in dem mit Serum getränkten Gebiete zurückführt. Als positiv bezeichnet wurden nur die deutlich blutroten, in einigen Fällen „pechschwarzen“, in anderen Fällen rosaroten, kreisrunden Flecken. Eine gelegentlich auftretende hauchartig rosa gefärbte Reaktion sowie einige Quaddeln mit punktförmigen roten Stippen wurde als nicht typisch in das Bereich der Fehlerquellen (Anstechen eines kleinen Blutgefäßes mit der feinen Nadel) verwiesen. Den von Boyksen erwähnten 3 mm breiten roten Hof um den dunkel gefärbten Hautkreis sahen wir nicht. Dagegen einen schmaleren, etwa 1 mm breiten, deutlichen weißen Ring an der Grenze des serumgetränkten Gebietes gegen das serumfreie. Ich führe ihn auf vorübergehende angiospastische Zustände zurück. Er trat in 5 negativen Fällen auf.

Die Reaktion trat bereits nach 6 Stunden ein. In einigen Fällen mit blasiger Abhebung einer Epidermisschicht bei schwer kachektischen schon nach 4 Stunden. (In einem Falle sogar innerhalb weniger Minuten!) Sie war nach 12 Stunden in voller Deutlichkeit und klang dann langsam in 2—3 Tagen

ab. In negativen Fällen hielt sich die Quaddel 12—24 Stunden und wurde teils ohne, teils mit in die umgebende Haut diffundierender Infiltration resorbiert. Die völlige Harmlosigkeit des Spritzens konnten auch wir in den meisten Fällen konstatieren. Allgemeinerscheinungen im Sinne der Beeinträchtigung des Wohlbefindens wurden nicht beobachtet. Wo es ging, wurde zweistündlich Temperatur gemessen; die höchsten beliefen sich auf $37,5^{\circ}$ (axillär) am Tage der Einspritzung. Eine Art Serumexanthem konnte ich an mir selbst etwa 8 Tage nach dreifacher Injektion zu Kontrollzwecken feststellen. Ob es auch bei den Patienten auftrat, vermag ich nicht zu sagen. Es kann sich meiner lediglich ambulanten Beobachtung entzogen haben. Es ist theoretisch serologisch von einigem Interesse (s. u.).

Ebenso wurden keine karzinomatösen Herdreaktionen gesehen. Keinerlei bei Inspektion oder Operation nachweisbare Veränderung der Geschwulstmassen im Sinne einer Quellung oder eines beschleunigten Zerfalls der Tumoren.

Die örtliche Reaktion verdient, abgesehen von den geschilderten typischen positiven Ausschlägen, bei einer nicht geringen Anzahl negativer Fälle eine gesonderte Besprechung. Nebenerscheinungen waren fast durchweg ziemlich ausgeprägt, so daß sie Veranlassung gaben zu eingehenden Untersuchungen der Seren. Als Stichproben wählte ich die Sera Oe 1 b, Oe 2, Mm 4, S 1, Ves und R 2 + Ö. Bakteriologisch blieben sie im aeroben und anaeroben Kulturverfahren durch 48 Stunden steril; chemisch erwiesen sie sich frei von abnormem Alkali- und Säuregehalt. Diese Ergebnisse entsprachen dem tadellosen, einwandfreien, makroskopisch klaren Aussehen. Somit dürfte, wie schon Boyksen annimmt, das bei der Intrakutanreaktion beobachtete diffuse Erythem vielleicht auf die vom tierischen Organismus gegen das artfremde Eiweiß einverleibter menschlicher Karzinomzellen gebildeten Stoffe zurückzuführen sein. Die Erscheinungen gipfelten in einigen Fällen in einem erysipelatösen Charakter der Schwellung; sie zeigte bei einem Umfang von höchstens Handtellergröße, in deren Mitte, von der Injektionsstelle ausgehend, sich eine entzündliche Rötung von ungefähr Markstückgröße befand, eine gegen die normalen Hautpartien treppenstufenartige steile Absetzung.

Am 2. Tage verlor sich die Schwellung mit ausgebreiteterer Rötung in die gesunde Umgebung und fand sich am 3. Tage, dem Gesetz der Schwere folgend, in einem abhängigeren Teil des Armes, bei Bettlage zumeist oberarmwärts in der Gegend zwischen Olecranon und Radiusköpfchen. Am 4. Tage ergab die Nachschau durchweg günstigen Ausgang der Armschwellung. Die Einstichstelle war dunkel (nekrotisch). Die Umgebung zeigte in Fünfstückgröße grünlich-gelblich-bläuliche Verfärbung, ähnlich den Farben eines in Umwandlung und Resorption begriffenen Blutergusses.

An Klagen wurden Hitzegefühl an der Injektionsstelle mit Jucken, Brennen und Stechen geäußert. Die geschwellenen Teile fühlen sich gegenüber den gesunden merklich heiß an. Erhöhte Körpertemperatur wurde nicht festgestellt. In keinem der Fälle kam es zu Abszedierungen oder Phlegmonen. Lymphdrüsenaffektionen oder lymphangitische Reizungen wurden nicht beobachtet. Ruhigstellung des Gliedes, steriler Schutzverband oder kühlende Umschläge mit essigsaurer Tonerde wurden angenehm empfunden. Es handelt sich lediglich um aseptische Infiltrationen.

Im übrigen wurde als Nebebefund bei 2 Paralytikern, die motorisch unruhig waren — durch das Pflegepersonal beobachtet — eine gewisse Schläfrigkeit gemeldet.

Nun zu der systematischen Uebersicht der klinischen Ergebnisse der Serumgruppen.

I. Gruppe A: Sera (mit tierischen Reaginen).

1. Adenogene Reihe.

Ich prüfte 14 Fälle von adenogenem Karzinom des Darmtraktes mit 53 Seren sowie 3 Karzinome, welche, wiewohl außerhalb des Darmtraktes lokalisiert (Prostata-Ca., Gesicht-Ca., Hypernephrom), sich schon nach Boyksens Beobachtungen serologisch gleich verhalten und fand bis auf 4 Fälle (Gallenblasen-Ca., Oesophagus?-Magen-Ca.?, Magen-Ca.-Ulcus? und operiertes Magen-Ca.) positive Reaktionen von 18 Serumampullen; und zwar 10mal R 2, 3mal R 1, 1mal R 2 + O, 1mal Adeno 1, 3mal V 1.

Von 17 Fällen 4 Versager. Allerdings lagen bei Fall 4, Oesophagus-Magen-Ca.?, lediglich bloßer Verdacht, aber keine

zwingenden klinischen Anhaltspunkte vor. Bei Fall 6 bestand nur röntgenologisch der Verdacht auf Pylorus-Ca. (Spasmus?, Stenose?), während bei 2: Gallenblasen-Ca. und 23: operiertes Magen-Ca. mit ausgebreiteten Metastasen vorläufig die Gründe für ein Versagen nicht zu ersehen sind.

Ich errechne somit ein prozentuales positives Ergebnis bei der serologischen Diagnostik des adenogenen Karzinoms des Darmtrakts in ca. 76 Proz., ein Versagen in ca. 24 Proz. der Fälle bzw., wenn wir die beiden klinisch nicht als Karzine manifestierten Erkrankungen abziehen, in ca. 14 Proz. gegen ca. 86 Proz. positive Ausschläge. Boyksen fand bei Rectumkarzinom 90 Proz., bei Magenkarzinom ca. 81 Proz. positive Ergebnisse, wobei das Serum R 2 als Diagnostikum angewandt wurde, während meine positiven Fälle mit R 2 (10mal), R 1 (3mal), R 2 + O (1mal), Adeno 1 (1mal) und V 1 (3mal) gewonnen wurden. Da ich aus den eingangs erläuterten Ueberlegungen nicht in allen Fällen die gleichen Seren anwendete, sind naturgemäß die Bedingungen für mathematisch gesicherte Schlußfolgerungen nicht völlig erfüllt. Sie bleiben einstweilen weiteren Untersuchungen vorbehalten.

2. Die Reihe der Plattenepithelseren bot folgendes Bild:

Ich untersuchte 8 Fälle von Plattenepithelkarzinomen: 3 Oesophagus-, 2 Lippenkarzine, 1 Zungen-, 1 Schläfenkarzinom; 1 Kankroid. Leider waren nicht bei allen Fällen Plattenepithelsera zur Hand. Sie wurden nur in 5 Fällen angewandt. Immerhin ist das Verhalten dieser Reihe bei Plattenepithelkarzinomen vorwiegend negativ, während die Reihe der adenogenen Seren positiv im Vordergrund steht.

Die Ergebnisse bei weiblichen Genitalkarzinomen waren negativ bis auf U 6, welches in 2 Fällen die geforderte Kapillarblutung angedeutet erkennen ließ. 3 positive Ausschläge gab R 2.

Die Ausschläge der Reihe 5 traten in ihrer Anwendung bei Karzinomatösen aus äußeren Gründen zurück und finden bei der Besprechung der Kontrollversuche weiter unten ihren Platz.

Die Sarkomreihe wurde bei einem Oberschenkel Sarkom bzw. Tbc.-Verdacht angewandt. Das Ergebnis war negativ.

II. Gruppe B (auf chemischem Wege gewonnene Spaltprodukte von Tumoren).

Das Injektionsmaterial ist nicht durch den Tierkörper gegangen, enthält also keine tierischen Reagine. Die Ergebnisse sind bis auf eine schwache positive Reaktion bei *Ca. colli valde progressum* in den angewandten Fällen negativ. Dies dürfte zu dem Schluß berechtigen, daß die Wirkung der Tierserumgruppe A schlechterdings nicht ausschließlich auf hypothetischen, vom Tierkörper gebildeten Tumorabbauprodukten oder Abbauf fermenten beruht.

Bei den bisherigen Zusammenstellungen klinisch geprüfter Seren (Gruppe A) war zugleich die Möglichkeit gegeben, die Wirkungsfähigkeit des einen der angewandten Seren gegenüber den anderen, im gleichen Falle aber auch innerhalb der einzelnen Reihen, zu kontrollieren. Es ergibt sich, daß R 2 in weitaus den meisten Fällen positive Ausschläge zeigte.

Es lag nun nahe, die Wirkung der Seren auch außerhalb des karzinomatösen Organismus einer weiteren Kontrolle zu unterziehen. Untersucht wurden Infektionskranke im weitesten Sinne, Geisteskranke sowie 1 Gesunder. Namentlich aber Kranke mit „Kachexie“. Insgesamt 34 Individuen mit 44 Serumampullen (Reihe 1, Adenog. Sera: 36; Reihe 2, Plattenepithelsera: 2; Reihe 5, Zusatz von Desinfektionsmitteln: 6 Phiolen).

Davon gaben nun 11 Patienten einen positiven Ausschlag, und zwar:

- 4 Paralysen (♂), 3mal R 2, 1mal R 2 + J,
- 1 Dem. praec. (♂), Adeno 1,
- 1 Tabes dorsal. (♂), R 2 + J,
- 1 multiple Skler. (♂), R 2 + J,
- 1 Katalonie (♂), R 2 + O,
- 1 senile Depress. (♀), R 1,
- 1 Epil.-Dem.-Tbc.-pulm. (♀), R 2,
- 1 Dem. senil. (♂), R 2.

Es sind also beteiligt die Reihe 1 mit 7 Seren (1mal R 1, 5mal R 2, 1mal Adeno 1) und die Reihe 5 mit 4 (3mal R 2 + J, 1mal R 2 + O).

Die positiven Ausschläge bei diesen Kontrollen unterschieden sich sowohl objektiv wie subjektiv in nichts von den

bei Karzinomatösen beobachteten Reaktionen. Sie wurden mit demselben Maße von Kritik aufgenommen. Karzinomverdacht hatte vorher nicht bestanden. Er wurde nach Ausfall der Reaktion als nicht ausgeschlossen bei 3 Fällen hingestellt.

Die Ergebnisse späterer Obduktionen bleiben abzuwarten, bevor man der Syphilis, der Tuberkulose oder konstitutionellen Absonderheiten eine ätiologische Rolle beim Ausfall der positiven Reaktion zuschreiben darf. Jedenfalls geht aus den Untersuchungen das eine hervor, daß die Kachexie als solche dabei unbeteiligt, daß es also keine „kechektische Reaktion“ schlechtweg ist.

Ich füge hier den Kopf des „Fragebogens“ an, der sich in einem Falle der Beobachtung durch einen Stationsarzt einer größeren Irrenabteilung bewährt hat. Er mag die wesentlichsten Beobachtungsmomente bei eventueller Nachprüfung in gedrängter Kürze zur Hand geben und dadurch weitere Nachprüfungen anregen, erleichtern und vervollständigen.

Auf welchen biologischen Momenten beruht die positive Wirkung der Seren?

Soviel scheint aus den Beobachtungen festzustehen, daß es sich hier nicht um spezifische „Antiepithelzellenserum“ handeln kann, sondern um unspezifische Sera, die auf gewisse bisher undefinierte Substanzen des Karzinomes als solchen zurückzuführen sind. Diese scheinen aus unbekannten Gründen in dem einen der Sera (R 2!) mehr, in dem anderen weniger oder gar nicht enthalten zu sein.

Bei der großen Wichtigkeit der Frage nach der Spezifität der Sera war es von besonderem Interesse, die klinischen Ergebnisse der Reaktionen mit den Ergebnissen der histologischen Untersuchungen zu vergleichen.

Boyksen hebt hervor, daß die bei bestehendem adenogenen Karzinom des Darmtraktes erfolgte intrakutane Einverleibung von „adenogenem“ Serum die Reaktion hervorrief, daß diese aber niemals mit einem Mamma-, Uterus- oder Plattenepithelkarzinomserum zu erzielen war. Das trifft für diese Gruppe auch in allen unseren Fällen zu. Es handelt sich demnach „hier um durchaus gesetzmäßige Vorgänge“. Bei anderen Karzinomen als adenogenen treffen diese Beob-

achtungen indes nicht zu. Als histologische Befunde ergaben sich z. B. bei den positiven Reaktionen mit R 2:

- 1 Rectum-Ca.,
- 1 Plattenepithel-Ca.,
- 1 verhorn. Plattenepithel-Ca.,
- 1 Basalzellen-Ca.

Hingegen versagte von den Plattenepithelseren z. B. Oe 3 bei histologisch festgestellten Plattenepithelkarzinomen vollkommen, während adenogene Sera, wie R 1 und Adeno 1, prompt ausschlugen. (Leider konnte ich von 39 Fällen nur 8 pathologische Untersuchungen bekommen.) Ich möchte aus diesen Angaben schließen, daß die Sera nicht organ- oder systemspezifisch auf Karzinom ansprechen; vielmehr scheint mir die Reaktion des krebssigen Organismus eine Art Allergie zu sein. Das wirksame Reagens, welches vom Tiere gebildet wird, dürfte also weniger auf die Zylinderzellen oder Plattenepithelzellen hin entstanden sein als auf gewisse, diesen allen mehr oder weniger gemeinsame krebssige Stoffe unbekannter Art.

Damit wäre vorderhand die zweifellos vorhandene energische Reaktionsbereitschaft der Sera, die eben nicht an die Grenzen der pathologisch-histologischen Systematik der Karzinome gebunden scheint, erklärt.

Nun gaben die serologischen Prüfungen der Injektionsmaterialien einen bemerkenswerten Befund. Die mit ihnen angestellten Wassermannschen Reaktionen ergaben in den einzelnen Extraktreihen (Rinderherzextrakt, Meerschweinchen I-, Meerschweinchen II-Herzextrakt und Luesleberextrakt) teilweise Hemmungen; sämtliche aber wiesen Eigenhemmung auf. Die moderne Komplementbindungstheorie führt dies Phänomen zurück auf gleichzeitige Anwesenheit von Antikörper und Antigen.

Gleicherweise soll die Serumkrankheit zustande kommen durch die Bindung von Reaktionskörper und Antigen mittels des als Ferment wirkenden Komplementes. Eine Art Serumkrankheit konnte ich aber, wie bereits erwähnt, an mir selbst beobachten. Diese beiden Befunde lassen sich zwanglos in die bestehenden anerkannten Theorien einfügen und durch sie erklären. Allergie ist verändertes Verhalten des Organismus.

14*

gegenüber neuen Antigenen. Das Vorhandensein von Antigenen in den Seren glaube ich durch die Eigenhemmung bewiesen zu haben. Dadurch kam ich zu der Ansicht, daß die intrakutane Reaktion eine Art Allergie ist.

Anders ist es jedoch mit der Gruppe B der chemischen Spaltprodukte der Tumoren. Auch sie wurden zum Komplementbindungsversuch herangezogen. Sie erwiesen sich in allen Extraktreihen als negativ, desgleichen sämtlich in der Eigenhemmungsreihe. Als Kontrollen wurden normale Tiersera (Pferde, Hammel, Meerschweinchen) und eine Anzahl agglutininhaltiger Tiersera benutzt, die sämtlich auch in der Eigenhemmungsreihe eindeutig negativ waren.

Eine Fülle von Fragestellungen, letzten Endes nach dem Wesen des Karzinoms, taucht auf. Vielleicht ist ein weiterer Ausbau dieser Sera dermaleinst dazu geeignet, das Dunkel zu lichten.

Wie erklärt sich aber das häufige positive Ausschlagen der Injektionen bei den Kontrollversuchen, speziell bei den Geisteskranken?

Das Karzinom gilt als Krankheit eines bestimmten Alters. Es tritt in Erscheinung als maligner Tumor plus hochgradiger Beeinflussung der Gesamtkonstitution im Sinne einer meist unaufhaltsam zunehmenden Kachexie. Nur selten pflegen Kinder oder Jugendliche an Karzinom zu erkranken; neuere therapeutische Bestrebungen bedienen sich des Serums jugendlicher in dem Glauben, es enthalte Stoffe, die dem Karzinomkranken mangeln. Wir wissen, daß Kinder im Besitz gewisser Organe sind (Thymus), die in steigendem Alter der Rückbildung verfallen. Meines Wissens ist keine Persistenz der Thymus bei Karzinomatösen pathologisch-anatomisch beschrieben. Dies ist zwar in keiner Weise zum Beweis verwendbar, gibt aber zu denken. Wir wissen weiter in der Medizin ganz allgemein von sogenannten „latenten Fällen“. Es wäre zu beweisen, daß derartige Variationen im Krankheitsbilde auch für das Karzinom zutreffen: Fehlen des markantesten Symptomes, des Tumors, bei bestehender hochgradiger Kachexie — Fälle, die ohne manifeste Karzinomsymptome allergisch einen positiven Ausschlag geben. Bei dreien der positiven geisteskranken Kontrollen wurde nun

ärztlicherseits ein latentes Bestehen eines Karzinoms immerhin zugegeben. Indes dürften gerade bei diesen Fällen die metaluetischen Infektionsprozesse als Superinfektionen mit in Rechnung gezogen werden müssen. Die ausgedehnten experimentellen Arbeiten großen Stils an dem Karzinomproblem, und schon die Sammelbefunde des Komitees zur Erforschung des Karzinoms deuten auf Analogieschlüsse mit Infektionstheorien hin. Die Forschung drängt förmlich zur Entdeckung des Karzinomerregers, die für viele Autoren gewissermaßen „in der Luft zu liegen scheint“.

Welches ist nun die praktische Bedeutung der serologischen Karzinomdiagnose?

Aus den klinischen Erfahrungen geht folgendes hervor: Das Serum eines Tieres, welches mit menschlichen Karzinomzellen vorbehandelt ist, vermag, einem Karzinomkranken intrakutan einverleibt, ohne Störungen des Allgemeinbefindens eine örtliche Hautreaktion auszulösen. Diese Reaktion trat bei adenogenem Karzinom des Darmtrakts mit dem homologen Serum in mehr als vier Fünftel der Fälle (gegen 86 Proz.) auf. Sie ist demnach diagnostisch höchstens ein ergänzendes, allerdings in der Beurteilung unsicheres Hilfsmittel. Positive Ausschläge waren aber aus noch unbekannten Gründen zu erzielen auch mit R2 bei einer Reihe von anderen Erkrankungsformen ohne gleichzeitiges Bestehen eines Karzinoms. Vorwiegend an den Reaktionen beteiligt und noch relativ am zuverlässigsten in seiner Wirksamkeit ist das Serum „R2“. Die anderen Sera sind diagnostisch noch ganz unzuverlässig; bei einigen hat man das Gefühl, als sei man bei ihrer Herstellung zwar auf der richtigen Fährte, aber noch sehr weit vom Ziel. Wenig oder keine diagnostische Bedeutung haben die chemisch erzeugten Spaltprodukte „Alb.“ und „Pept.“. Von einer gesicherten praktischen Bedeutung ist diese serologische Karzinomdiagnose noch weit entfernt. Dazu bedarf es großer Verbesserungen in der Herstellung der Testsera, der vielseitigen Nachprüfung an einem gewaltigen Krebsmaterial, den verschiedensten Organen entstammend, und nicht zuletzt des sorgfältigsten Studiums aller Fehlerquellen, vor allem der Möglichkeit positiver Ausschläge bei nicht karzinomatösen Erkrankungen.

In unseren positiven Fällen genügt auch durchaus schon der klinische Befund zur Krebserkennung. Es waren diagnostisch einwandfreie Spätfälle. Der praktische Wert solcher Reaktionen liegt aber in ihrer Brauchbarkeit für die Frühdiagnose und für strittige Fälle. Nach unseren Versuchen ist in dieser serologischen Karzinomdiagnose bisher lediglich ein vielversprechender Weg gefunden, der von Experimentatoren und Klinikern nachhaltig verfolgt werden müßte und der gewisse Perspektiven eröffnen könnte auf etwaige Immunitäts- bzw. immundiagnostische Verhältnisse des Karzinoms.

Zusammenfassung.

1) Das Serum „R 2“ eines mit menschlichen adenogenen Karzinomzellen vorbehandelten Tieres ist mit einer Zuverlässigkeit von 86 Proz. zur Diagnose adenogener Karzinome beim Menschen intrakutan verwendbar.

2) Die Wirksamkeit scheint auf gleichzeitiger Anwesenheit von Antigen und Antikörper zu beruhen.

3) Somit dürfte die Reaktion des krebsigen Organismus als Allergie aufzufassen sein.

4) Positive Ausschläge bei nicht Karzinomatösen lassen dieser serologischen Karzinomdiagnose eine gesicherte praktische Bedeutung vor der Hand noch nicht zukommen.

5) Auf chemischem Wege gewonnene Spaltprodukte der Tumoren sind diagnostisch nicht verwendbar.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald.]

**Bestehen Beziehungen zwischen der Anaphylatoxinbildung
in vitro und der Aenderung der Oberflächenspannung?**

(Ueber Anaphylaxie. LXIII. Mitteilung.)

Von Prof. Dr. **E. Friedberger** und Dr. **E. Putter**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. Juli 1922.)

In den letzten Jahren ist man mehr und mehr bestrebt gewesen, die Immunitätsreaktionen als physikalisch-chemische Prozesse, vor allen Dingen als rein kolloidale Reaktionen zu deuten. Es sei hier an die zahlreichen Arbeiten von Sachs und seinen Schülern, an die Veröffentlichungen von Schmidt, Doerr, Dold, Sahli, Kopaczewski, Mutermilch, Lumière und vielen anderen erinnert.

Eines der Gebiete der Immunitätslehre, auf das die neueren Anschauungen besondere Anwendung gefunden haben, ist auch das der Anaphylaxie.

Neben der Anaphylaxie in vivo hat man dann naturgemäß aber auch die Anaphylatoxinbildung im Reagenzglas in den Bereich dieser Betrachtungen gezogen. Hier waren es vor allen Dingen neben Sachs, Schmidt, Dold eine Reihe französischer Autoren¹⁾, vor allem Kopaczewski, Mutermilch und Lumière, die eine ganz präzise Vorstellung über die Entstehung des Anaphylatoxins auf rein physikalischer Grundlage erstrebten.

Die Ansichten von Sachs, Schmidt und Dold usw. bezüglich der Anaphylatoxinbildung sind in einer Reihe von

1) Einen Teil der zahlreichen Veröffentlichungen haben wir dank unserer Referententätigkeit bei den Springerschen Zentralblättern seinerzeit im Original lesen können. Bei der Abfassung dieses Manuskriptes standen uns jedoch fast nur noch die Referate zur Verfügung.

Arbeiten aus unserem Institut (weitere Literatur daselbst)¹⁻⁷⁾ wie von dem verstorbenen Loewit in seinen zuletzt publizierten, in der Literatur nicht immer genügend berücksichtigten Veröffentlichungen⁸⁾ behandelt und in wesentlichen Punkten experimentell bekämpft worden.

Da es sich bei vielen der zahlreichen neueren Arbeiten von Kopaczewski⁹⁾ sowie Lumière¹⁰⁾ um reine Reagenzglasversuche mit einer relativ einfachen Apparatur handelt, so bot sich für uns auch unter den heutigen schwierigen Verhältnissen die Möglichkeit, diese Versuche einmal nachzuprüfen, was um so wichtiger erschien, als sich zwischen Kopaczewski und Lumière über die Bedeutung der Oberflächenspannung für den anaphylaktischen Shock eine ausgedehnte Debatte entsponnen hat, die bis zur Stunde noch nicht abgeschlossen ist.

Kopaczewski unterscheidet drei Gruppen von Shocks, „Kontaktshocks“, wie er sie nennt: den zellulären, den humoralen und den thromboplastischen Shock. Um den letzten vorwegzunehmen, so stellt er sich seine Entstehungsweise folgendermaßen vor: bei der Einführung von Suspensionen, wie Karmin, Kaolin, Bariumsulfat, „Kollobiasen“, Gelatine, lebende und tote Bakterien, in die Zirkulation komme es zu einer Ausbildung von Blutkoagulis, indem die einzelnen Suspensionspartikelchen gewissermaßen als Kristallisationskerne, oder richtiger als Koagulationszentren wirken, an die sich die Blutplättchen und weißen Blutkörperchen anlagern. Die so entstandenen Blutthromben würden mit dem Blutstrom

1) Friedberger und Joachimoglu, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 84, 1917, S. 336.

2) Friedberger und Putter, diese Zeitschr., Bd. 30, 1920, S. 227.

3) Friedberger, diese Zeitschr., Bd. 30, 1920, S. 275.

4) Friedberger und Putter, diese Zeitschr., Bd. 30, 1920, S. 321.

5) Runge, Dissertation Greifswald, 1920.

6) Friedberger und Konitzer, diese Zeitschr., Bd. 31, 1921, S. 293.

7) Friedberger und Putter, diese Zeitschr., Bd. 32, 1921, S. 218 und 226.

8) Loewit, diese Zeitschr., Bd. 27, 1918, S. 407.

9) Kopaczewski, hauptsächlich Compt. rend. hebd. d. séanc. de l'acad. de scienc., 1921 und 1922.

10) Lumière, ebenda.

in die Kapillaren geführt, wo sie eine Verstopfung hervorrufen ¹⁾).

Der humorale Shock werde durch die erstmalige Injektion von Kolloiden hervorgerufen, die entweder dispersitätsvergrößernd oder -verfeinernd auf die Blutkolloide wirken. Im ersten Falle kommt es zu einer Agglomeration der Mizellen und zur Ausbildung von feinen Flöckchen, die dann ebenfalls zu einer Kapillarembolie führen; im zweiten Falle tritt nach Kopaczewski eine Lösung der geformten Elemente, also vor allem der roten Blutkörperchen ein, so daß der Tod durch Asphyxie herbeigeführt wird. Die dispersitätsvergrößernde Wirkung der eingeführten Kolloide wird nun von ihm auf mehrere physikalisch-chemische Eigenschaften zurückgeführt: einmal auf ihre oberflächenspannungserhöhende Wirkung, zweitens darauf, daß sie die Viskosität verringern, drittens auf ihre starke elektrische Ladung, durch die sie die Ladung der Plasmakolloide verändern und so deren Stabilität verringern. Die Dispersitätsverfeinerung dagegen wird ausgelöst durch Substanzen, die die Oberflächenspannung des Blutes erniedrigen, seine Viskosität vermehren und so zu einer Zell-lyse, speziell Hämolyse Veranlassung geben. Zu den oberflächenspannungssteigernden Mitteln gehören z. B. Natriumbikarbonat, stabilisiertes Silberkolloid, nichtstabilisiertes Eisenhydroxyd, Arsenobenzol, Atoxyl. Sie alle, mit Ausnahme des stabilisierten Silberkolloids, wirken zugleich auch viskositätsvermindernd. Zu den oberflächenspannungsvermindernden und zugleich viskositätsvermehrenden Substanzen werden z. B. Natriumoleat, Pepton, Aalserum, Pferdeserum, Menschenserum gerechnet.

Der zelluläre oder echte anaphylaktische Shock ist dadurch gekennzeichnet, daß seine Auslösung nur nach vorhergehender sensibilisierender Behandlung möglich ist. Diese notwendige Inkubationszeit läßt sich nach Kopaczewski einzig und allein dadurch erklären, daß man den Reaktionsablauf vom Blutplasma in die Zelle verlegt annimmt. Hier werden durch dieselben, eben erwähnten, physikalisch-chemischen Einflüsse die Osmose, Diffusion und Quellung verändert. Durch Modifizierung der elektrischen Ladung

1) Vgl. die ganz ähnlichen Anschauungen von P. Schmidt über Anaphylaxie und Anaphylatoxinwirkung.

kann nach dem Autor die Intensität und sogar die Richtung der Osmose gewechselt, durch Vergrößerung oder Verkleinerung der Zellmembranen die Diffusion beeinflußt werden. Es wird so einerseits zu einer Durchlässigkeit für Substanzen kommen, die normaliter nicht permeabel sind, und umgekehrt können Stoffe im Zellinnern zurückgehalten werden, die gewöhnlich diffusibel sind. Das osmotische Gleichgewicht zu beiden Seiten der Membran wird also gestört. Alle diese Vorgänge erfordern aber Zeit; sie können nicht so schnell ablaufen wie kolloidale Reaktionen in flüssigem Medium. So erklärt sich ungezwungen nach des Autors Ansicht die notwendige Inkubationszeit. Der Shockmechanismus ist übrigens von einem Teil der humoralen Shocks nicht zu unterscheiden. Auch hier soll es zu Mizellaggregationen kommen, die man angeblich ultramikroskopisch direkt beobachten kann. Man sieht nämlich, daß das Serum seine feine Struktur geändert hat. Die kleinen leuchtenden Pünktchen zeigen nicht mehr die Brownsche Molekularbewegung und sind zu größeren Haufen zusammengeballt.

Beim humoralen sowohl wie beim zellulären Shock konstatiert Kopaczewski immer dieselben Sektionsbefunde, nämlich: Lungen emphysematös und blaß, mit einzelnen Blutungen, Hyperämie der Organe, Erweiterungen der Gallenblase, „congestion viscerale avec suffusions sanguines dans le peritoine“, Verzögerung der Blutkoagulation um mehrere Stunden, bis 20 Minuten lang schlagendes Herz nach Aufhören der Atmung, Verminderung der Leukozyten und Blutplättchen, niedriger Blutdruck, geschrumpfte Kapillaren, Vermehrung der Oberflächenspannung des Blutes, Verminderung der Blutviskosität, Aenderung der elektrischen Ladung der Globuline, die positiv werden, mizellare Flockung, Erhöhung des refraktometrischen Index.

Der Sektionsbefund beim thromboplastischen Shock weicht von dem der beiden anderen jedoch wesentlich ab, nämlich: Lungen zusammengesunken und blaß, Herz stillstehend und mit Blutkoagula angefüllt, Blut und Lymphe geronnen.

Auch Lumière macht für die Entstehung der Shockerscheinungen die kolloidale Flockung verantwortlich. Er verlegt ihre Wirkung aber nicht wie Kopaczewski in die Lunge, sondern ins Gehirn. Durch die erstmalige Injektion körperfremder Eiweißstoffe werde den Körperkolloiden die

Fähigkeit verliehen, mit einer neuen Dosis der gleichen Substanz zu flocken. Das entstehende Präzipitat schlage sich auf den Endothelien der Gehirnkapillaren nieder, wodurch eine starke Vasodilatation hervorgerufen werde, die sich auf dem Reflexwege auf den Gefäßbaum des gesamten Eingeweides ausdehne. Hieraus resultiere eine enorme Blutdrucksenkung, die eine fast völlige Stagnation der Blutzirkulation zur Folge habe. Als Beweise für die Richtigkeit dieser Anschauung werden die zahlreichen interstitiellen Blutungen, die Möglichkeit der Shockunterdrückung durch Anaesthetica, durch Vasokonstriktionsmittel und durch Injektion größerer Mengen physiologischer Kochsalzlösung [Friedberger und Tassawa¹⁾] angeführt. Auch die Unmöglichkeit der Shockauslösung durch Injektion ins linke Herz mit vorhergehender Karotidenligatur wird in diesem Sinne verwertet.

Dieser Ansicht ist neuerdings Widal²⁾ mit einer Reihe von Argumenten entgegengetreten, die sich zugleich auch gegen die Flockungstheorie Kopaczewskis richten. Er weist vor allem darauf hin, daß noch niemand diese Flockungen gesehen hat. Und tatsächlich hat Lumière im Gegensatz zu Kopaczewski anerkannt, daß sie weder mikroskopisch noch ultramikroskopisch darstellbar sind, er folgert sie lediglich aus anderen physikalisch-chemischen Begleitreaktionen, wie z. B. aus dem Auftreten eines verstärkten Tyndall-Phänomens beim Zusammentreffen des Serums präparierter Tiere mit dem homologen Antigen. Widal beschränkt sich also darauf, eine Störung des kolloidalen Gleichgewichts, eine „dislocation soudaine du complexe hémolytique“ anzunehmen, ohne einen Flockungsvorgang zu präjudizieren.

Auf diese Streitfrage soll hier, da sie außerhalb unserer Betrachtung liegt, nicht näher eingegangen werden. Außerdem haben wir schon in einer früheren Abhandlung³⁾ dazu Stellung genommen. Uns interessiert hier zunächst lediglich der Gegensatz, der bezüglich der Frage der Oberflächenspannung zwischen Lumière und Kopaczewski besteht.

Obwohl nämlich, wie erwähnt, sowohl Lumière wie

1) Friedberger und Tassawa, diese Zeitschr., Bd. 19, 1913, H. 4.

2) Widal, hauptsächlich Compt. rend. hebdom. de séanc. de l'acad. de scienc., 1921 und 1922.

3) Diese Zeitschr., Bd. 30, 1919, S. 321.

Kopaczewski als auslösendes Moment für den anaphylaktischen Shock Flockungen feinen Kalibers, die nach des einen Ansicht überhaupt nicht, nach des anderen Angaben jedoch ultramikroskopisch sichtbar zu machen sind, annehmen, besteht doch, was den Entstehungsmechanismus dieser Flocken angeht, eine bisher noch nicht überbrückte Kontroverse zwischen beiden. Lumière leugnet, um es kurz zu sagen, jeden Zusammenhang zwischen Oberflächenspannung und Anaphylaxie, während Kopaczewski die Vermehrung der Oberflächenspannung als *primum movens* in der Entwicklung der anaphylaktischen Veränderungen für unentbehrlich hält. Wenigstens scheinen uns die früheren Arbeiten Kopaczewskis diesen Standpunkt apodiktisch zu vertreten. In einer seiner neueren allerdings¹⁾ betrachtet er die Vermehrung der Oberflächenspannung durchaus nicht mehr als *conditio sine qua non* — er weist diese Annahme vielmehr als mißverständliche Unterschiebung Lumières zurück — sondern als einen von vielen Faktoren, die bei der Störung des kolloidalen Gleichgewichtes, das schließlich zur Flockung führt, ursächlich beteiligt sein können. Er will sogar, wie bereits erwähnt, unter anderen auch die Aenderung der Viskosität, der elektrischen Ladung und eine Reihe weiterer bisher noch nicht bekannter Momente mitberücksichtigt wissen. Er gibt ferner zu, daß der humorale Shock auch von einer Verminderung der Oberflächenspannung begleitet sein kann, wobei zugleich eine Vermehrung der Viskosität und eine konsekutive Desaggregation der Mizellen mit nachfolgender Lyse der geformten Elemente zu beobachten ist.

Lumière bemängelt bei Kopaczewski die Methodik und demzufolge auch die Ergebnisse seiner Messungen. So sei z. B. die Behauptung Kopaczewskis, daß die Verhinderung des Shocks durch das von Lumière angegebene Natriumhyposulfit auf einer Verminderung der Oberflächenspannung beruhe, wodurch die Flockenbildung verhütet werde, falsch. Denn das Natriumhyposulfit vermindere gar nicht die Oberflächenspannung, sondern vermehre sie sogar. Seine Wirkung beruhe ausschließlich auf seiner desaggregierenden Quote. Eine Zunahme der Oberflächenspannung als solche beim anaphylak-

1) Kopaczewski, *Revue de médecine*, 1922, Heft 3, p. 129—150; Heft 4, p. 211—229.

tischen Shock leugnet nun Lumière keineswegs; er hält sie aber für eine sekundäre Folge der Flockung und nicht umgekehrt die Flockung für eine Folge der Oberflächenspannung.

Demgegenüber findet Kopaczewski wieder Fehler in Lumières Arbeitstechnik, und er bezweifelt infolgedessen die erzielten Ergebnisse.

Es ist also noch keineswegs erwiesen, daß die namentlich in unsere Literatur als Tatsache übergegangene Oberflächenspannungserhöhung bei der Anaphylaxie und der Anaphylatoxinbildung wirklich besteht, wie wir ja überhaupt von vielen dieser Dinge, wie Doerr in seinem Sammelreferat Die Anaphylaxieforschung 1914—1921 hervorhebt, „so gut wie nichts oder doch wenig wissen, was über den Rahmen der Spekulation und der von vielen Autoren gebrauchten oder richtiger mißbrauchten kolloidchemischen Phraseologie hinausgeht“. Es erschien uns deshalb prinzipiell wichtig, die ganze Frage bei den bestehenden Gegensätzen einmal experimentell zu prüfen. Leider mußten wir uns wegen Tiermangels lediglich auf Vitroversuche beschränken. Die hierfür erforderlichen recht beträchtlichen Komplementmengen verdanken wir dem lebenswürdigen Entgegenkommen des Leiters der Forschungsanstalt für Maul- und Klauenseuche auf der Insel Riems bei Greifswald, Herrn Dr. Waldmann, dem wir dafür auch an dieser Stelle herzlich danken.

Es handelt sich um das Serum mittelgroßer Meerschweinchen, das am Tage nach der Blutentnahme verarbeitet wurde.

Die Messungen der Oberflächenspannung wurden mit dem Traubeschen Stalagmometer unter Berücksichtigung aller erforderlichen Kautelen vorgenommen (vgl. hierzu Kisch und Remertz)¹⁾. Die Reinigung des Stalagmometers wurde mit Schwefelsäure-Kaliumbichromat durchgeführt; dann Nachspülen mit Leitungs- und dann mit destilliertem Wasser, Trocknen mit Alkoholäther. Die Zählung geschah anfangs direkt, später mit Hilfe des Gerhardtschen Zählapparates, bei dem wir in den Kontaktbolzen zur Erzielung eines sichereren Stromschlusses einen Platindraht einführen ließen, der die Verbindung mit dem Quecksilbernäpf herzustellen hatte. Außerdem brachten wir oberhalb des mit dem Zelluloidabfluß armierten Hebels zur Vermeidung der störenden Schwingungen eine

1) Kisch und Remertz, Münch. med. Wochenschr., 1914, S. 1097 bis 1099.

verstellbare Schraube an, die auf ihrer Spitze einen Korkpuffer trug. An ihm wurde die nach dem jedesmaligen Abtropfen des Flüssigkeitstropfens nach oben gerichtete Schwingungstendenz abgedämpft. So hergerichtet, arbeitete der Apparat sicher und zuverlässig, während wir vorher sehr häufig entweder unter Ausfällen oder Doppelzählungen zu leiden hatten. Auf einen möglichst erschütterungsfreien Raum von möglichst konstanter Temperatur, 18—20° (die Versuche fanden im Winter statt) wurde großer Wert gelegt.

Das Komplement war möglichst hämoglobinfrei durch Absetzenlassen des Blutes bis zum nächsten Tage gewonnen, doch wurden die letzten, beim Abgießen hier und da vielleicht mitübergegangenen Blutkörperchen durch scharfes Zentrifugieren entfernt. Auf den störenden Einfluß eines zu starken Hämoglobingehaltes bei stalagmometrischen Versuchen haben bereits Traube¹⁾, Kisch und Remertz²⁾ hingewiesen.

Die Versuche wurden bei Differenzen von mehr als 0,1 Tropfen stets mehrmals wiederholt, bis konstante Werte erreicht waren. Die Fehlergrenze betrug bei unseren Versuchen nicht mehr als $\pm 0,1$ Tropfen.

Wir lassen nun im Nachstehenden unsere Versuche folgen. Ehe wir an die eigentliche Frage des Verhaltens der Oberflächenspannung bei der Anaphylatoxinbildung herangingen, haben wir eine Reihe von Voruntersuchungen ausgeführt.

1. Verhalten verschiedener Seren derselben Tierspezies.

Zunächst haben wir uns davon überzeugt, daß die Oberflächenspannung für das Serum zahlreicher Tiere der gleichen Spezies einen ziemlich konstanten Wert darstellt. Bei einem Stalagmometer, dessen Wasserzahl bei 20° 52,2 Tropfen betrug³⁾, fanden wir bei der Untersuchung der Einzelseren verschiedener Tiere fast immer konstante Werte, die nur um Bruchteile eines Tropfens von dem Durchschnittswert von 57 Tropfen bei unverdünntem Serum nach unten und oben ab-

1) Traube, Internat. Zeitschr. f. phys.-chem. Biologie, Bd. 1, 1914, S. 389.

2) Kisch und Remertz, a. a. O.

3) Der Gebrauch eines kleineren Apparates (18 Tropfen), der an sich eine große Komplementersparnis bedeutet hätte, wurde sowohl für diese wie für alle übrigen Versuche verworfen, weil er wegen der auch jetzt schon geringen Ausschläge zu ungenaue Ergebnisse geliefert hätte.

wichen. Bei Verdünnungen von 1:10 erhielten wir den Durchschnittswert von 53 Tropfen. Die geringen Differenzen können zwanglos auf den wechselnden Gehalt der Seren an Hämoglobin und Chylus zurückgeführt werden, denn auch wir haben in Bestätigung der Traubeschen¹⁾ und Kisch und Remertzschen²⁾ Versuche gefunden, daß sowohl Blutfarbstoff wie chylöse Beimengungen wohl geeignet sind, die Oberflächenspannungswerte mehr oder weniger zu erniedrigen, da das Hämoglobin sowohl wie die im Chylus zahlreich enthaltenen Fette stark kapillaraktive Stoffe sind.

2. Einfluß des Erwärmens und Verdünnens auf die Oberflächenspannung.

Das Serum wurde je $\frac{1}{2}$ Stunde in Wasserbädern von verschiedenen Temperaturen erwärmt. Und zwar wurden zwei Versuchsreihen angestellt: einmal haben wir das Serum nativ den betreffenden Temperaturen ausgesetzt, ein zweites Mal mit physiologischer Kochsalzlösung 1:10 verdünnt. Das unverdünnt erwärmte Serum wurde natürlich zur Messung ebenfalls mit der neunfachen Kochsalzlösungsmenge versetzt. Die Zeit der Einwirkung der betreffenden Temperaturen, nämlich 30 Minuten, wurde vom Augenblick des Einsetzens der Reagenzgläser in das entsprechend temperierte Wasserbad ab gerechnet. Die Resultate eines solchen Versuches zeigt die nachstehende Tabelle:

Tabelle I.
Versuch vom 28. XI. 1921.
Meerschweinchenmischserum von mehreren Tieren.

| Temperatur | Tropfenzahl | | Trübungsgrad | |
|------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------|---------|
| | Serum 1, vor dem Verdünnen erhitzt | Serum 2, nach dem Verdünnen erhitzt | Serum 1 | Serum 2 |
| 20° | 54,1 (2) | | 0 | 0 |
| 45° | 54,2 (25) | 54,3 (4) | 0 | 0 |
| 55° | 55,1 (05) | 55,4 (45) | 0 | 0 |
| 65° | 55,85 (85) | 56,75 (8) | 5 | 1 |
| 75° | — | 56,9 (9) | — | 2 |
| 85° | — | 57,1 (0) | — | 3 |
| 100° | — | 59,4 (3) | — | 4 |

Die eingeklammerten Zahlen bedeuten die Dezimalen der bei der zweiten Lesung gewonnenen Werte.

1) l. c.

2) l. c. und Intern. Zeitschr. f. phys.-chem. Biologie, Bd. 1, 1914, S. 354—388.

Wir sehen, daß mit zunehmender Temperatur die Oberflächenspannung abnimmt. Bei 45° ist diese Zunahme noch nicht mit Sicherheit zu konstatieren. In verschiedenen anderen Versuchsreihen, deren Reproduktion wir aus Gründen der Raumersparnis unterlassen, war die Zunahme der Tropfenzahl schon bei dieser Temperatur etwas deutlicher. Bei 55° ist die Zahl der Tropfen bereits um einen ganzen vermehrt. Diese Tropfenzunahme verläuft weiter parallel der Temperatursteigerung. Man könnte den Einwand machen, daß die Verdunstung die Oberflächenspannungserniedrigung verursacht. Demgegenüber sei hervorgehoben, daß auch bei Erhitzung der Proben in zugeschmolzenen Röhrchen gleiche Ergebnisse erzielt werden, was von vornherein zu erwarten war, da auch Kisch und Remertz¹⁾ gefunden hatten, daß geringe Konzentrationsänderungen einflußlos sind. Allerdings haben sie in ihren Versuchen den Nachweis nur für Konzentrationsverringerungen (Zusatz von phys. NaCl-Lösung oder dest. Wasser), nicht aber für Konzentrationssteigerungen, wie sie beim Verdunsten eintreten, erbracht. Durchblicken wir die 3. Spalte der Tabelle, so finden wir hier durchweg höhere Tropfenwerte als bei den entsprechenden Temperaturen der 2. Spalte. Die Oberflächenspannung wird also deutlich stärker herabgesetzt, wenn man das Serum in verdünntem Zustande erhitzt. In diesem Zusammenhang sei an eine Angabe Mandelbaums²⁾ erinnert, der zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion die Inaktivierung des Patientenserums in verdünntem, anstatt, wie bisher üblich, in underdünntem Zustande empfiehlt. Dadurch soll die antikomplementäre, eigenhemmende Wirkung mancher Seren ausgeschaltet und zugleich auch die Reaktionsbreite vergrößert werden.

Wir haben hier also in der deutlichen Differenz beim Verhalten der Oberflächenspannung bei Inaktivierungsprozessen in nativem oder verdünntem Zustande eine exakt meßbare physikalische Handhabe dafür gefunden, daß tatsächlich Veränderungen mit dem Serum vor sich gehen müssen, die bei Erwärmung in unverdünntem Zustande nicht auftreten können. Welcher Art diese Veränderungen sind, kann man natürlich

1) l. c.

2) Mandelbaum, Münch. med. Wochenschr., 1918, S. 294.

aus diesen Versuchen allein nicht sagen. Die von Hirschfeld und Klinger¹⁾ vertretene Anschauung, daß es sich bei der Inaktivierung um eine Stabilisierung der Globuline handle, ließe sich als Erklärung heranziehen. Danach müßte man annehmen, daß die durch die Erwärmung hervorgerufene Stabilisierung der Serumkolloide der Veränderung des Kolloidzustandes durch die nachfolgende Verdünnung mit Kochsalzlösung hindernd entgegensteht, so daß hier die Verringerung der Oberflächenspannung hinter derjenigen der verdünnt erhitzten Seren zurückbleibt.

Auch P. Hirsch und M. Liebers²⁾ sind der Ansicht, daß es bei der Hitzeinaktivierung des Komplementes zu einer Stabilisierung der Globuline kommt. Sie weisen darauf hin, daß man die Globulinveränderungen, die durch eine Temperatur von 56° hervorgerufen werden, nicht als eine Vorstufe der Hitzeokoagulation auffassen darf. Bei der Untersuchung im Spalt-Ultramikroskop zeigte sich auffallenderweise eine Zunahme des Dispersitätsgrades durch Sprengung der größeren Ultramikronen-Komplexe in kleinere. In Uebereinstimmung damit steht die Beobachtung, daß auch bei der Tyndallometer-Ausmessung eine deutliche Abnahme des Tyndalleffektes nach dem Inaktivieren festzustellen ist. Selbst makroskopisch sollen manche von vornherein opaleszierende Seren durch die Temperatureinwirkung aufgeheilt werden.

Schließlich darf nicht übersehen werden, daß die Reaktion des Komplementes durch die Erwärmung verändert wird, und zwar im Sinne einer Zunahme der Alkalinität, die ihrerseits auch wieder nicht ohne Einfluß auf den Verteilungszustand der Serumkolloide bleiben kann, wodurch eine Veränderung der Oberflächenspannung in den Bereich der Möglichkeit gezogen wird. Dagegen sprechen allerdings Versuche von Kisch und Remertz³⁾, die inaktiviertes Serum wieder neutralisierten und einen Rückgang der Oberflächenspannungsabnahme nicht konstatieren konnten. Auch war es den Autoren nicht möglich,

1) Hirschfeld und Klinger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, S. 40—76.

2) Hirsch und Liebers, Fermentforschung, Bd. 6, Heft 2, S. 105 bis 118, und Dtsch. med. Wochenschr., 1922, No. 28.

3) l. c.

durch Zusatz von 0,1 ccm n/10 Natronlauge zu 5 ccm Serum die Oberflächenspannung in gleichem Sinne wie beim Inaktivieren zu verändern. Selbstverständlich konnte man auch rein chemische Umsetzungen der Serumbestandteile als auslösende Momente für die Oberflächenspannungsabnahme ansprechen, eine Annahme, zu der Traube¹⁾ hinneigt. Er hält eine Hydrolyse für wahrscheinlich, infolgederen es zum Auftreten freier Fettsäuren und Gallensäuren kommt, die bekanntlich viel stärker kapillaraktiv sind als ihre Salze. Indessen muß, nach Traubes Ansicht, „dieser Vorgang mit einem zweiten Vorgange verbunden sein, an welchem physikalisch oder chemisch das Eiweiß beteiligt ist“.

In den beiden letzten Spalten der Tabelle ist die durch die Erhitzung eingetretene Trübung berücksichtigt. Bis zu einer Erwärmung von 55° war eine Trübung überhaupt noch nicht zu beobachten. Bei 65° erreichte das unverdünnt erhitzte Serum eine außerordentlich starke Trübung, die selbst die des auf 100°, aber in verdünntem Zustande erhitzten Serums übertraf. Bei 75° war das unverdünnte Serum völlig koaguliert, so daß es nicht mehr verarbeitet werden konnte. Die Zahlen 1—5 bedeuten keine absoluten Werte. Sie setzen nur die einzelnen Serumproben zueinander in Beziehung. Es zeigt sich, daß der Trübungsgrad in keinem Zusammenhang mit der Oberflächenspannung steht, wie man es a priori erwarten sollte. Offenbar sind an der Oberflächenspannungsveränderung die hochmolekularen, schon von vornherein verhältnismäßig wenig kapillaraktiven Eiweißstoffe gar nicht beteiligt, sondern die Lipide, die bekanntlich eminent kapillaraktiv sind.

Suchen wir nach einer Erklärung für die physikalisch-chemischen Aenderungen, die sich bei zunehmender Temperatur geltend machen, so liegt es am nächsten, folgenden Vorgang zu präzisieren. Durch die Erhitzung des Serums tritt eine Hydrolyse der Lipide ein, durch die es zur Bildung von freien Fettsäuren kommt. Diese erniedrigen die Oberflächenspannung. Dadurch werden die Mizellarkomplexe des Eiweißes gesprengt und ihr Dispersitätsgrad erhöht. Bei weiterer Steigerung der Temperaturhöhe über 56° hinaus geht die hydrolytische Spal-

1) Traube, Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908, S. 380—386.

tung der Lipoiden weiter, wodurch die Oberflächenspannung immer mehr herabgesetzt wird. Der dispersitätsverfeinernden Tendenz tritt aber nunmehr die Hitzeaggregation der Eiweißkörper entgegen, wodurch es jetzt zu einer Vergrößerung des Verteilungsgrades kommt, die sich schließlich schon makroskopisch als Trübung bemerkbar macht. Dementsprechend sehen wir in der Tabelle ein Auftreten der Trübung bei Temperaturen von 65° aufwärts. Bei der Erhitzung des Serums in verdünntem Zustande wird die hydrolytische Spaltung begünstigt, daher die stärkere Herabsetzung der Oberflächenspannung, dagegen die Agglomeration der Eiweißpartikelchen beeinträchtigt durch ihre größere räumliche Entfernung voneinander. Auch hierfür gibt der Versuch in der Tabelle I klare Hinweise, in der durchweg beim verdünnt erhitzten Serum höhere Tropfenzahlen und niedrigere Trübungsgrade zu konstatieren sind als bei den nativ erhitzten.

3. Einfluß des Alterns auf die Oberflächenspannung.

Das Meerschweinchenserum wurde in mit Gummistopfen luftdicht verschlossenen Röhrchen, 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, unter sterilen Kautelen bei Zimmertemperatur aufbewahrt und alle 24 Stunden die Oberflächenspannung gemessen. Es zeigte sich, daß auch beim Altern des Serums die gleichen Veränderungen der Oberflächenspannung vor sich gehen, wie beim Erwärmungsprozeß, nur langsamer. So war nach 24 Stunden eine Zunahme um einen halben Tropfen, nach 48 Stunden um einen weiteren halben Tropfen zu konstatieren, ein Verhalten, das mit dem Inaktivierungsvorgang auch hier wieder ganz parallel geht, denn es ist ja bekannt, daß das Komplement bei Aufbewahrung in Zimmertemperatur schon nach 2 Tagen seine Komplettierfähigkeit völlig eingebüßt haben kann. Wir befinden uns hier im Gegensatz zu Traube¹⁾, der beim Altern des Serums eine Erhöhung der Oberflächenspannung gesehen hat.

4. Einfluß der Vermischung von aktivem und inaktivem Serum.

In einer Abhandlung Traubes¹⁾ „Zur Komplementfrage“ findet sich die überraschende Angabe, daß die durch das In-

1) Traube, Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908, S. 380—386.

aktivieren hervorgerufene Erniedrigung der Oberflächenspannung durch Zusatz frischen aktiven Serums rückgängig gemacht werden kann. Wir kamen bei Nachprüfung dieser Angaben zu entgegengesetzten Ergebnissen, wie folgende Tabelle zeigt:

Tabelle II.

Versuch vom 20. VII. 1921.

Meerschweinchenmischserum von mehreren Tieren, unverdünnt.

| | | Tropfenzahl |
|---------------------------|---|-------------|
| Meerschweinchenmischserum | aktiv | 57,7 (75) |
| " | inaktiv | 59,6 (6) |
| " | aktiv + inaktiv $\bar{a}\bar{a}$, sofort nach Mischung | 58,85 (9) |
| " | dgl., nach 1 Std. Zimmertemp. | 58,85 (9) |
| " | dgl., " 3 " " | 59,0 (0) |
| " | dgl., " 12 " " | 59,5 (5) |
| " | dgl., " 24 " " | 59,5 (4) |

Wir sehen also, daß sofort nach dem Mischen ein Mittelwert zwischen dem aktiven und inaktiven Serum gefunden wird, daß in den nächsten Stunden keine Zunahme der Oberflächenspannung eintritt, sondern eine Abnahme, die schon nach 24 Stunden zu einer fast kompletten Annäherung an den inaktiven Wert geführt hat.

5. Einfluß des Verdünnungsmittels in isotonischer Konzentration.

Wir verdünnten einmal das Serum mit physiologischer Kochsalzlösung, dann mit 4,15-proz. Traubenzuckerlösung und drittens mit destilliertem Wasser. Ein Unterschied zwischen dem Kochsalz- und dem Traubenzucker Serum bestand nicht. In beiden Fällen fanden wir 54,3 Tropfen. Dagegen war die Oberflächenspannung des mit destilliertem Wasser verdünnten Serums deutlich höher, nämlich 53,35 Tropfen. Es ist ja leicht verständlich, daß die Verminderung des Salzgehaltes um das 10fache eine Umwandlung des Kolloidzustandes hervorrufen muß, für die die Aenderung der physikalischen Konstanten des Serums die Indikatoren sind.

Nach Abschluß dieser Vorversuche gingen wir nun zur Prüfung unserer eigentlichen Aufgabe über. Es war

6. das Verhalten der Oberflächenspannung unter den Bedingungen der Anaphylatoxinbildung der Bakterien und beim Kontakt des Serums mit Stärke, Inulin, Agar-Agar und Kaolin zu untersuchen.

Bei der Anaphylatoxinbildung aus Bakterien gingen wir folgendermaßen vor: Die Ernte mehrerer Schrägagarröhrchen wurde in je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung gebracht, die Suspensionen zusammengegossen, die Hälfte 1 Stunde bei 60° abgetötet, die andere Hälfte nativ als Matrix für das Anaphylatoxin verwendet. Zu je 8 ccm aktivem bzw. inaktivem Meerschweinchenserum wurde 1,5 ccm der lebenden bzw. toten Bazillenemulsion zugesetzt; 2 Stunden Aufenthalt bei Brutschranktemperatur; dann wurden nach 30 Minuten langem Zentrifugieren bei 3000 Touren die Abgüsse im Vergleich zum nativen Serum auf ihre Oberflächenspannung untersucht. Natürlich war das native Serum, entsprechend mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, ebenfalls 2 Stunden im Brutschrank belassen und gleich stark zentrifugiert worden. Es waren also in unseren Versuchen jedesmal lebende und tote Bakterien sowohl mit aktivem wie mit inaktivem Serum in Kontakt.

Bei dem Kontakt des Serums mit Agar-Agar, Inulin, Stärke, Kaolin wurde analog verfahren, nämlich:

Vom Agar wurde genau nach der Vorschrift von Bordet eine 0,5-proz. Agarstammllösung hergestellt und von dieser 1,5 ccm zu der gleichen Serummengende wie vorher, 8 ccm, zugesetzt.

Von der Stärke wurden 10 g mit Kochsalzlösung nach den Angaben von Schmidt verkleistert. Wir benutzten ausschließlich die auch von Schmidt verwendete Klopferstärke A. Vom Kleister wurden ebenfalls 1,5 ccm zu 8 ccm Serum zugesetzt. Außerdem wurde in einem zweiten Versuch die gleiche Stärkemenge unverkleistert zugesetzt.

Von Inulin wurde Inulin Kahlbaum benutzt; einmal in Suspension nach der Methode von Nathan, das andere Mal in Lösung nach den Angaben des gleichen Autors hergestellt. Die zu 8 ccm Serum zugesetzte Menge betrug 1,5 ccm einer 5-proz. Lösung bzw. Aufschwemmung.

Von Kaolin (Marke Michaelis-Leitz) endlich wurde 1 g auf 1,5 physiologischer Kochsalzlösung zu 8 ccm Serum zugesetzt.

Wir beschränken uns darauf, von unseren zusammen 600 Versuchen wegen der Gleichförmigkeit der Resultate nur eine Reihe zu bringen, bei der an einem Tag fast alle Substanzen mit dem gleichen Komplement durchgeprüft worden sind.

Tabelle III.

Versuch vom 10. XI. 1921.

Meerschweinchenmischserum von mehreren Tieren, 1:10 verdünnt.

| Vorbehandlung des Serums | Tropfenzahl | |
|--|-------------|----------|
| | aktiv | inaktiv |
| Serum 8 ccm + 0,85-proz. NaCl-Lösung 1,5 ccm, 2 Std. 37° 30 Min. zentrifugiert | 53,9 (8) | 56,4 (4) |
| Serum 8 ccm + Prodigiosussuspension 1,5 ccm, 2 Std. 37° 30 Min. zentrifugiert | 54,6 (7) | 57,0 (0) |
| Serum 8 ccm + 1,0 g Kaolin + 1,5 ccm NaCl, 2 Std. 37° 30 Min. zentrifugiert | 53,1 (0) | 53,0 (0) |
| Serum 8 ccm + Stärkekleister 1,5 ccm, 2 Std. 37° 30 Min. zentrifugiert | 54,7 (7) | 57,6 (5) |
| Serum 8 ccm + Agar 1,5 ccm, 2 Std. 37° 30 Min. zentrifugiert | 54,5 (5) | 56,9 (9) |
| Serum 8 ccm + Inulinsuspension 1,5 ccm, 2 Std. 37° 30 Min. zentrifugiert | 54,5 (4) | 56,9 (8) |
| Serum 8 ccm + Inulinlösung 1,5 ccm, 2 Std. 37° 30 Min. zentrifugiert | 54,4 (4) | 56,9 (8) |

Wir haben hier neben den anaphylatoxinbildenden Bakterien eine ganze Anzahl solcher Substanzen untersucht, von denen andere Autoren behauptet hatten, daß bei ihrem Kontakt mit Serum gleichfalls Anaphylatoxin gebildet würde.

Ueber die Ergebnisse unserer sehr zahlreichen Versuche können wir uns kurz fassen. Alle von uns untersuchten Substanzen, mit Ausnahme des Kaolins, verursachten unter den Bedingungen, unter denen eine Anaphylatoxinbildung eintritt (Bakterien) und unter denen, wo sie von anderen behauptet wird, eine zwar geringe, aber deutliche Herabsetzung der Oberflächenspannung. Nur das Kaolin verursacht eine Erhöhung der Oberflächenspannung.

Die von Kopaczewski behauptete Zunahme der Oberflächenspannung bei Bakterien- oder Agarbehandlung¹⁾ konnten wir also, abgesehen vom Kaolin, nicht beobachten. Gerade

¹⁾ Kopaczewski, Compt. rend. de la Soc. de Biol., T. 77, 1914, p. 415.

für das Kaolin ist es heute unbestritten, daß es mit der Anaphylatoxinbildung nichts zu tun hat.

Man darf aus dem gleichsinnigen Verhalten der Bakterien, des Agars, der Stärke (Kleister und Suspension) und des Inulins (gelöst und ungelöst) nun keineswegs schließen, daß hier auch bezüglich der Anaphylatoxinbildung Analogien bestehen müssen. Dagegen spricht schon die Tatsache, daß Stärkekleister und -Suspension sowie Inulin gelöst und suspendiert sich gleichsinnig verhalten, während doch auch nach den Autoren, die eine Anaphylatoxinbildung durch Inulin annehmen, nur die Suspension giftbildend wirken soll. Vor allem aber spricht gegen den Zusammenhang der Umstand, daß aktives und inaktives Serum gleich reagieren, obwohl doch die Anaphylatoxinbildung nur mit aktivem Serum gelingt.

Die gleichsinnige Herabsetzung der Oberflächenspannung durch die verschiedenen Substanzen dürfte wohl darauf zurückzuführen sein, daß bei dem längeren Kontakt des Serums mit den verschiedenen Substanzen oberflächenaktive Stoffe auftreten, die vorher nicht in Erscheinung getreten sind. Ob sie aus den Kolloiden des Serums stammen oder aus den zugesetzten Stoffen selbst, ist durch die Messung der Oberflächenspannung allein nicht zu entscheiden. Vielleicht ist beides der Fall. Nur beim Kaolin kann man wohl eine Lösung selbst minimaler Mengen ausschließen. Hier kommt die stark adsorptive Fähigkeit des Kaolins zur Geltung, die zu einer Konzentrationsverarmung des digerierten Komplements führt. Damit ist die Zunahme der Oberflächenspannung in diesem Falle hinreichend erklärt.

Zusammenfassung.

Nach Kopaczewski spielt bei der Auslösung des anaphylaktischen Shocks und der Anaphylatoxinbildung die Erhöhung der Oberflächenspannung des Blutes bzw. Serums und die Verminderung seiner Viskosität mit konsekutiver Flockung eine ausschlaggebende Rolle, während Lumière, der zwar auch eine kolloidale Flockung für die Entstehung des Shocks verantwortlich macht, einen Zusammenhang zwischen Anaphylaxie und Oberflächenspannung leugnet. Mit Rücksicht auf diese Divergenz haben wir selbst das Verhalten der Ober-

flächenspannung unter den in Frage kommenden Bedingungen und namentlich bei der Anaphylatoxinbildung näher geprüft. Unsere Untersuchungen über die Oberflächenspannung des Blutserums des Meerschweinchens unter verschiedenen Versuchsbedingungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1) Die Oberflächenspannung des Serums verschiedener Tiere der gleichen Spezies ist annähernd konstant.

2) Bei der Erwärmung des Serums nimmt die Oberflächenspannung umgekehrt proportional der Temperatursteigerung ab, und zwar bei verdünnt erwärmtem Serum stärker als bei unverdünnt erwärmtem.

3) Beim Altern des Serums nimmt die Oberflächenspannung gleichfalls allmählich ab.

4) Die durch die Inaktivierung bedingte Erniedrigung der Oberflächenspannung kann nicht durch Zusatz frischen aktiven Serums (Traube) rückgängig gemacht werden.

5) Verdünnung mit destilliertem Wasser bedingt eine höhere Steigerung der Oberflächenspannung als Verdünnung mit entsprechenden Mengen von Kochsalzlösung oder isotonischer Traubenzuckerlösung.

6) Von den von uns untersuchten Substanzen erhöht allein das Kaolin unter den gleichen Bedingungen die Oberflächenspannung.

7) Bei der Anaphylatoxinbildung aus Bakterien, ebenso bei der Behandlung des Serums mit Stärke, Inulin und Agar tritt eine deutliche Herabsetzung der Oberflächenspannung ein. Diese erfolgt jedoch in gleicher Weise unter Verwendung inaktiven und aktiven Serums sowie unter Verwendung von Inulinsuspension und -Lösung, Stärkekleister und Stärkesuspension.

Da die Anaphylatoxinbildung nur mit aktivem Serum gelingt, so ergibt sich schon hieraus, daß ein Zusammenhang der Giftbildung mit der Veränderung der Oberflächenspannung nicht anzunehmen ist. Dazu kommt noch, daß das Inulin und die Stärke unabhängig von ihrem physikalischen Zustand die Oberflächenspannung in gleicher Weise beeinflussen, während nach den Autoren, die hier eine Analogie mit der Anaphylatoxinbildung annehmen (Sachs, Nathan, Schmidt), nur die Suspension wirksam sein soll.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald

**Typus und Wesen der isogenetischen — Verwandtschafts-
und heterogenetischen Präzipitation mit monogenen
Antiseris ¹⁾.**

Von Prof. Dr. **E. Friedberger** und Dr. **Gertrud Meißner**.

Mit 1 Doppeltafel.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. August 1922.)

Bald nach der Entdeckung der Präzipitinreaktion durch Uhlenhuth, Wassermann und Schütze berichteten Strube²⁾, Kratter³⁾ sowie Kister und Wolff⁴⁾ über unspezifische Reaktionen derart, daß Sera der mit einem gewissen Antigen vorbehandelter Tiere auch auf Eiweiß anderer und nicht nur verwandter Tierspezies übergriffen. Kister und Wolff fanden z. B., daß gewisse Antipferdekaninchenserum innerhalb 20 Minuten mit Hammel-, Menschen-, Ochsen- und Schweineblut reagierten; im allgemeinen schwächer als mit dem homologen Eiweiß, mit dem phylogenetisch gerade am entferntesten stehenden Menscheneiweiß aber relativ immer noch am stärksten. Ähnlich verhielt sich das Antihammelkaninchenserum, nur daß es nicht auf Mensch wirkte. Auch das Antischweinekaninchenserum reagierte nicht mit Mensch, wohl aber das Antiochsenkaninchenserum.

Zu ähnlichen Resultaten kam Strube, wenn er auch ganz besonders die größere Intensität der homologen Reaktion betont.

Kratter und Okamoto haben das Uebergreifen von Antimenschen- und Antirinderserum näher untersucht und bereits zahlenmäßig ein Uebergreifen bei 9,28 Proz. der

1) Vorgetragen in der Sitzung der Berliner mikrobiolog. Gesellschaft am 8. Mai und 9. Okt. 1922. S. auch Klin. Wochenschr., 1922, No. 25.

2) Deutsche med. Wochenschr., 1902, No. 24.

3) Wiener med. Wochenschr., Bd. 53, 1903, S. 24—26.

4) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 41, 1902, S. 410.

antiserumspendenden Kaninchen festgestellt. Die Autoren heben ausdrücklich hervor, daß in der Art der homologen und heterologen Trübungen kein Unterschied besteht.

Am eingehendsten hat dann Nuttall¹⁾ mit 30 verschiedenen Antiseris an 800 verschiedenen Blutarten 16000 Reaktionen angestellt. Er fand im Gegensatz zu den vorerwähnten Autoren, daß das Uebergreifen proportional dem Grad der Verwandtschaft gehe und daß unter Anwendung zweckentsprechender Kautelen diese Trübungen keinen Anlaß zu Verwechslungen geben.

Besonders haben sich endlich noch Uhlenhuth und Beumer²⁾ mit diesen „heterologen“ Trübungen beschäftigt.

Sie schreiben:

„Wir haben bei den äußerst zahlreichen Untersuchungen, die sowohl Uhlenhuth allein, als auch wir beide in Gemeinschaft seit der Veröffentlichung des Uhlenhuthschen Verfahrens in der genannten Weise angestellt haben, von diesen heterologen Trübungen nie etwas gesehen, und wir haben uns daher in den letzten Monaten ganz besonders bemüht, diese heterologen Trübungen aufzufinden. Diese Untersuchungen sind mit sehr hochwertigen Mensch-, Schwein-, Pferd-, Rind- und Schafantiseris an den verschiedensten Blutlösungen in allen Verdünnungen angestellt.

Unser Urteil bezüglich dieser heterologen Trübungen ist folgendes:

- 1) Wird die Untersuchung in der genau von uns angegebenen Weise angestellt, so entstehen keine heterologen Trübungen.
- 2) Heterologe Trübungen sind hervorzurufen, wenn konzentrierte Blutlösungen bei erheblichem Zusatz hochwertigen Antiserums verwendet werden.
- 3) Aber selbst diese von uns gesuchten, in starken Blutlösungen nach längerer Zeit des Stehens selten auftretenden Trübungen können einen Zweifel bezüglich der Sicherheit der Untersuchungsmethode nicht aufkommen lassen, da sie bezüglich der Intensität und Schnelligkeit des Auftretens mit den spezifischen Trübungen nicht im entferntesten zu verwechseln sind.“

Also auch sie haben nur in konzentrierten Antigenlösungen Fällungen gesehen, die an „Intensität und Schnelligkeit des Auftretens mit den spezifischen Trübungen nicht im entferntesten zu verwechseln sind“ (a. a. O. S. 66).

Mit diesen Feststellungen Uhlenhuths und vor allen Dingen mit der bewundernswert präzisen, jede nur erdenkliche

1) Nuttall, Blood immunity and blood relationship. Cambridge 1905.

2) Zeitschr. f. Medizinalbeamte, 1903, No. 5/6; s. ferner: Uhlenhuth, Das biologische Verfahren zur Erkennung und Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Jena 1905, S. 65.

Fehlerquelle berücksichtigende Ausarbeitung seiner Methode für die Praxis schwand dann das praktische Interesse für diese heterologen Trübungen, und auch theoretisch wurden sie nicht weiter bearbeitet.

Nun fanden Friedberger und Collier¹⁾, daß eine Reihe von ihnen besonders ausgewählter, übergreifender Antipferdesera der Greifswalder Bestände mit Hammeleiweiß in gleicher Weise, ja unter Umständen stärker reagierten als mit dem Eiweiß, daß zur Vorbehandlung gedient hat (Pferd). Manche Sera reagierten sogar gleich stark, wie auf Pferd, nicht nur auf Hammel, sondern auch auf Mensch und Schwein und bis zu einem gewissen Grade auf Hund und Katze. Ähnlich verhielt sich das Serum eines mit Katzen-eiweiß gespritzten Kaninchens gegenüber einer Reihe von Antigenen.

Wir möchten vorschlagen, weiterhin solche Antisera, die nur mit einem Antigen hergestellt wurden, aber auf andere übergreifen, zweckmäßig als **monogen** und **polyerg** zu bezeichnen, solche aber, die mit mehreren Antigenen hergestellt werden, als **polygene** Sera.

Die Untersuchungen wurden von Friedberger und Jarre²⁾ unter Zuhilfenahme des großen Bestandes unseres Instituts an präzipitierenden Seris weitergeführt, und zwar wurden für diese Versuche naturgemäß gerade diejenigen Sera benutzt, die sich bei der Prüfung vor der Bereitstellung zur Abgabe als nicht spezifisch erwiesen hatten.

Da es von vornherein klar war, daß ein Uebergreifen um so eher zu konstatieren war, je größer die Zahl der Antigene war, mit der jeweils das zu prüfende Antiserum überschichtet wird, so haben Friedberger und Jarre die Prüfung jeden präzipitierenden Serums mit den 15 folgenden Antigenen angestellt: Mensch, Pferd, Esel, Rind, Hirsch, Ziege, Hammel, Schwein, Katze, Hund, Kaninchen, Meerschweinchen, Huhn, Gans, Ente. Sie fanden wiederum nicht nur Uebergreifen in der Reihe des phylogenetischen Systems auf verwandte Eiweißarten,

1) Friedberger und Collier, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 28, 1919.

2) Friedberger und Jarre, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 30, 1920.

sondern auch scheinbar wahllos auf ganz fernstehende, denn es reagierte z. B. ein Antipferdeserum (Titer 1:20 000) in annähernd gleicher Stärke auf das Eiweiß von Rind, Hirsch, Ziege, Schwein, Hammel und Mensch. Auch Antihundeserum wirkte in gleicher Weise auf Pferd und Esel. In dem zeitlichen Auftreten und der Stärke der Reaktion waren Unterschiede nicht zu bemerken¹⁾.

Eine vollinhaltliche Bestätigung fanden die Ergebnisse von Friedberger und Collier sowie Friedberger und Jarre durch Reeser²⁾, der in einer umfassenden Arbeit die verschiedensten Antisera mit dem Serum von Mensch,

1) Doerr und Berger legen in ihrer jüngsten Arbeit (Zeitschr. f. Hyg., Bd. 96, S. 258) anscheinend Wert auf die ausdrückliche Feststellung, daß „Doerr und Ruß schon 1909 ein Antihammelserum beschrieben haben, welches von einem sehr lange immunisierten Kaninchen herrührte, und das nicht nur mit Hammelserum, sondern auch mit Ziegen-, Rinder-, Schweine-, Menschen- und Pferdeserum ausflockte und gegen alle aufgezählten Serumarten passiv präparierte. Später (1920) berichteten dann insbesondere Friedberger und Jarre über solche „aspezifischen“ präzipitierenden Antikörper.“ Wenn wir die Arbeit von Doerr und Ruß (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909, S. 195) ansehen, so ist uns diese ausdrücklich zeitlich fixierte „Prioritätsfeststellung“ von Doerr und Berger ganz unverständlich, denn das hier erwähnte Serum von Doerr und Ruß präzipitierte zwar Hammel und Ziege 1:20 000, Rind bis 12 000, aber Schwein nur bis 2000, Mensch und Pferd gar nur bis 100, Huhn < 1:50. Es handelt sich hier also um einen Serumtypus, wie ihn schon vor Doerr und Ruß (1909) 1902/1903 Strube, Kratter, Kister, Wolff, 1905 Nutall, Beumer und Uhlenhuth und viele andere beschrieben haben. Es hätte daher dieser ausdrücklichen Feststellung gegenüber Friedberger und Jarre nicht bedurft, da es sich bei dem Serum von Doerr und Ruß um ein in der Immunitätslehre längst bekanntes Verhalten handelt. Doerr und Berger übersehen vollständig, daß das wesentliche bei den Untersuchungen von Friedberger und Jarre darin liegt, daß gewisse Sera auf im System ganz fernstehende Tierarten unter Umständen gleich stark reagieren wie auf das Antigen der Vorbehandlung, und daß weiterhin diese Präzipitine, wie schon damals auf Grund von Bindungsversuchen festgestellt wurde und in dieser Arbeit eingehend dargetan wird, von den spezifischen verschieden sind. Auch daß die Sera, wie Doerr und Ruß behaupten, gegen alle Serumarten, mit denen sie präzipitierten, auch im Anaphylaxieversuch passiv präparierten, ist, wie in einer weiteren Arbeit von Friedberger und Scimone gezeigt wird, sachlich unrichtig.

2) Reeser, Mededeelingen van de Rijksseruminrichting, Deel II, Afl. II, Rotterdam 1919.

Pferd, Rind, Ziege, Hammel, Hund, Katze, Schwein, Huhn, Taube, Ente, Meerschweinchen und Kaninchen untersuchte. Auch er fand gar nicht selten mit vollkommen heterologem Eiweiß eine gleich intensive und gleich schnell, manchmal sogar auch noch stärker auftretende Reaktion wie mit dem homologen. So reagierte z. B. sein Antimenschenserum 2 (Titer 1:1000) mit Hund, Katze, Pferd, Hammel bis 1:20000, mit Rind und Ziege genau so stark wie mit Mensch.

Gegenüber diesen eindeutigen Ergebnissen von Friedberger und Collier, Friedberger und Jarre sowie Reeser fanden Neumarck¹⁾ sowie Manteufel und Beger²⁾ niemals ein Uebergreifen auf artfremdes Eiweiß in gleicher Stärke wie auf das homologe, und Gutfeld und Neumarck³⁾ war die Tatsache des Uebergreifens damals überhaupt noch so neu, daß sie von einer Besonderheit der Greifswalder Antisera sprechen zu sollen glaubten. Manteufel und Beger betonen nicht nur, daß die heterologe Reaktion bei ihnen immer schwächer ist als die homologe, sondern sie polemisieren auch mit Friedberger und Jarre und ohne die Befunde von Reeser gebührend zu berücksichtigen, bezüglich der Häufigkeit der Reaktion, die bei ihnen angeblich viel seltener sei als bei Friedberger und Jarre. Dabei übersehen diese Autoren aber merkwürdigerweise völlig, daß Friedberger und Jarre über die Frequenz der Reaktion überhaupt keine Untersuchungen angestellt haben, sondern lediglich eine Reihe übergreifender Sera unseres Instituts für ihre Untersuchungen über das Wesen dieser Reaktion ausgewählt haben. Manteufel und Beger sind also nicht berechtigt, zu schreiben, daß Friedberger und Jarre „angeblich in großem Umfange solche Sera gesehen haben“. Ueber die Frequenz haben wir erst in neuerer Zeit Untersuchungen angestellt, über die eine von uns (Fräulein Dr. Meißner) in der nachstehenden Veröffentlichung berichtet wird. Da hatte sich denn ergeben, daß übergreifende

1) Neumarck, Med. Klinik, 1919, No. 48.

2) Manteufel und Beger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921.

3) Gutfeld und Neumarck, Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhyg., 1919, H. 22.

Sera, wie sie bei Manteufel in 37 Proz. vorkamen, bei uns in 44,2 Proz. beobachtet wurden, also kein erheblicher Unterschied. Die Differenz ist im wesentlichen vielleicht nur auf die Zahl und Art der untersuchten Antigene zurückzuführen. Bis zur Verdünnung 1:1000 war das Uebergreifen 13,5 bzw. 16,9 Proz., also wieder kein nennenswerter Unterschied! Allerdings haben Manteufel und Beger, wie schon erwähnt, niemals ein Uebergreifen bis zur Titergrenze des homologen Serums im Gegensatz zu Friedberger und Collier, Friedberger und Jarre, Reeser, Meißner gesehen.

Die Abweichungen mehr technischer Natur, die Manteufel für die Verschiedenheit zwischen seinen und unseren Untersuchungen verantwortlich machen zu können glaubt, treffen nicht zu. Auch wir haben so gut wie immer mit frischen Seris vorbehandelt, die Zahl der Injektionen nicht über 3, höchstens 4 ausgedehnt, usw.

Ebensowenig möchten wir heute noch die ungünstigen Fütterungsverhältnisse der Kriegs- und Nachkriegszeit verantwortlich machen, denn wir haben übergreifende Sera auch noch jetzt bei völlig normaler ausgezeichnete Fütterung eigener Zuchten, und wir haben sie in unseren Beständen von präzipitierenden Seris aus der Vorkriegszeit nicht minder festgestellt. Vielleicht spielt die Jahreszeit und das Alter der Tiere eine Rolle. Darüber wird in der nachstehenden Arbeit von G. Meißner näher berichtet.

Jedenfalls müssen wir den Bordetschen Satz: „Behandelt man ein Tier der Spezies A mit Antigen der Spezies B, so bildet dieses Tier Antikörper, die nur gegen das Antigen der Spezies B gerichtet sind“, heute, wie folgt, fassen: „Behandelt man ein Tier der Spezies A mit Antigen der Spezies B, so **kann** ein Serum auftreten, das nur mit dem Antigen der Spezies, die zur Vorbehandlung gedient hat, reagiert.“

Auch in unseren weiteren Untersuchungen, über die wir nunmehr berichten wollen, kam es uns nicht so sehr darauf an, die zahlenmäßige Frequenz der übergreifenden Sera näher festzustellen, als vielmehr im Anschluß an unsere früheren Arbeiten in das Wesen des Phänomens tiefer einzudringen.

Für die Untersuchungen standen uns eine Reihe verschiedenster in unserem Laboratorium hergestellter Antisera von mit Mensch, Rind, Hund, Katze, Huhn, Hammel, Reh, Ziege vorbehandelten Kaninchen, im ganzen 31 zur Verfügung. Geprüft wurden alle Antisera gegen Eiweiß (Serum) von folgenden 12 Tierarten: Mensch, Rind, Ziege, Hammel, Pferd, Schwein, Hund, Katze, Kaninchen, Meerschweinchen, Huhn, Taube.

Die angewandte Technik war die auch in den früheren Versuchen unseres Instituts übliche, das heißt, es wurde das Antigen in fortlaufenden Verdünnungen 1:100, 1000, 10000, 20000 (je 1 ccm) über je 0,1 ccm Antiserum geschichtet bzw. damit gemischt.

Wir bezeichnen nun weiterhin die Reaktion eines präzipitierenden Antiserums mit dem homologen Eiweiß als „spezifische“ oder „isogenetische Reaktion“, die mit dem Eiweiß verwandter Tierspezies als „Verwandtschaftsreaktion“, die Reaktion mit dem Eiweiß im System ganz entfernt stehender Tierspezies als „heterogenetische Reaktion“, die entsprechenden Antikörper als „isogenetische“, „Verwandtschafts“- und „heterogenetische Präzipitine“.

Im Sinne unserer Nomenklatur (s. auch S. 235) sind die streng isogenetischen Sera als monogen-monoerg, die übergreifenden je nach der Art ihrer Gerinnung als monogen-polyerg oder polygen-polyerg zu bezeichnen.

I. Die Morphologie der isogenetischen, heterogenetischen und Verwandtschaftspräzipitate.

Schon Kister und Wolff¹⁾ haben die Präzipitate mikroskopisch im hängenden Tropfen untersucht, offenbar aber keinen morphologischen Unterschied beobachtet. Auch von anderen Autoren liegen darüber keine Angaben vor. Bei den Untersuchungen von Friedberger und Collier²⁾ sowie Friedberger und Jarre³⁾, bei denen in erster Linie die Ringprobe angewandt worden war, hat Lupenuntersuchung mit starken Systemen gleichfalls keinen Unterschied in dem mor-

- 1) Kister und Wolff, a. a. O.
Friedberger und Collier, a. a. O.
- 3) Friedberger und Jarre, a. a. O.

phologischen Verhalten der Präzipitatringe ergeben. Weder in der Stärke der Reaktion noch im zeitlichen Auftreten, noch in der Struktur waren irgendwelche Differenzen vorhanden. So reagierte zum Beispiel ein Rinderantiserum in der Ringprobe gleich stark auf Mensch, ein Hundeantiserum auf Katze, ein Katzenantiserum auf Hund usw.

Ganz anders aber lagen nun die Verhältnisse, als wir mittels der Trübungsreaktion, wie sie beim Vermischen von Antigen und Antiserum entsteht, an eine morphologische Analyse der Präzipitate herangingen. Zwar trat bei der makroskopischen Betrachtung ein Unterschied im Aussehen der Trübung bei auffallendem Licht nicht in Erscheinung, wenn auch zuweilen die Trübung der heterogenetischen Präzipitate etwas geringer war als die der isogenetischen, auch da, wo der Endtiter der gleiche war.

Ganz andere Bilder aber ergaben sich im durchfallenden Licht. Schon bei makroskopischer Betrachtung erschienen die spezifischen Präzipitate hier trüber und grobflockiger als die heterogenetischen. Deutlich wird dieser Unterschied im Agglutinoskop bei 6facher Vergrößerung. Wir benutzten besonders das ausgezeichnete Agglutinoskopmodell von Dold, das die Firma E. Leitz-Berlin herstellt. Mit diesem Agglutinoskop erscheint bei teilweiser Abblendung das Präzipitat mit dem Eiweiß der Vorbehandlung in großen, lockeren, grauen, schneeflockenartigen Gebilden, das mit dem heterogenetischen Eiweiß dagegen in dichteren, meist kleineren, scheinbar spezifisch schwereren, weißen Klümpchen. Die Zwischenflüssigkeit ist beim Präzipitat mit dem isogenetischen Eiweiß opaleszent, bei dem mit heterogenetischem Eiweiß mehr klar (Fig. 1).

Betrachtet man im Agglutinoskop bei durchfallendem Licht statt bei partieller Abblendung, so treten die dichten Flocken weniger hervor.

Die mikroskopische Untersuchung der Präzipitate erfolgte bei schwacher und bei starker Vergrößerung, im Dunkelfeld, im Hängetropfen und im gefärbten Präparat (Fuchsin, Methylenblau, Kristallviolett). Für die Färbung ergab sich nach mannigfachen Vorversuchen als beste Fixationsmethode die mit Osmiumsäuredämpfen.

Bei schwacher Vergrößerung (Zeiß-Okular I, Objektiv AA) besteht das spezifische (isogenetische) Präzipitat aus größerer lockeren, traubenähnlichen Haufen von wabiger Struktur mit unregelmäßigem Rand (Fig. 2)¹⁾.

Manchmal finden sich neben den eben charakterisierten Haufen eigentümliche, kompaktere, bandförmige Gebilde, die jedoch nur selten auftreten (sie wurden 5mal unter 30 Seris beobachtet), und zwar unabhängig von dem verwandten Antigen. Worauf sie beruhen und ob sie etwa Kunstprodukte sind, darüber vermögen wir noch nichts Näheres zu sagen (s. Fig. 3)¹⁾.

Die Präparate färben sich gut mit den vorerwähnten Anilinfarben. Wir benutzten zur Vermeidung von Niederschlägen stark verdünnte, filtrierte Lösungen. Färbedauer etwa 1 Stunde.

Bei mikrophotographischer Aufnahme (Leitz-Objektiv 24) zeigen sich in den spezifischen Präzipitaten die gleichen lockeren, traubenförmigen, wabigen Gebilde, wie sie bei der schwachen Vergrößerung im Mikroskop sichtbar sind. Der ganze Grund des Präparates aber besteht aus zahllosen feinen, homogen verteilten Mizellen, die bei der schwachen Vergrößerung und bei der Betrachtung gefärbter Präparate kaum sichtbar sind und auf die wohl die allgemeine Trübung der Zwischenflüssigkeit isogenetischer Präzipitate zurückzuführen ist (s. Fig. 4).

Ganz anders ist das Aussehen der heterogenetischen Präzipitate. Diese bestehen aus winzigen Partikelchen, die nur etwa $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{100}$ der Größe der lockeren Präzipitathaufen haben, sie sind außerdem nicht wabig strukturiert, sondern dicht, und erscheinen im ungefärbten Präparat mehr weißlich im Vergleich zu den mehr grauen, groben, wabigen, isogenetischen Präzipitaten. Neben diesen dichten Partikelchen finden sich zahlreiche feine, staubförmige Körperchen (s. Fig. 5).

Auch diese heterogenetischen Präzipitate nehmen die Färbung mit den vorerwähnten Anilinfarben an, wenn auch etwas schwerer als die spezifischen.

Bei mikrophotographischer Aufnahme sieht man besonders schön trotz der großen Zahl der kleinen dichten Präzipitate und der unendlichen Menge der kleinen staubförmigen Partikelchen, daß die Zwischenflüssigkeit homogen ist, und das

1) Zeichnungen vom Akad. Zeichner E. Häger in Greifswald. Die Ausführung der Mikrophotogramme hat Herr Dr. Putter in dankenswerter Weise ausgeführt.

findet auch bei der agglutinoskopischen Betrachtung darin seinen Ausdruck, daß die dichten Präzipitate im Gegensatz zu den isogenetischen lockeren in einer klaren Flüssigkeit suspendiert erscheinen (s. Fig. 6).

Die beiden Bilder, Fig. 4 und Fig. 6, ähneln weitgehend Photogrammen, wie wir sie bei der Agglutination der H- und der O-Formen des ÖX 19-Bazillus erhalten haben. Es ist das die bekannte grobe und feine Agglutination, wie sie zuerst Friedberger¹⁾ bei verschiedenen Typhusstämmen beschrieben hat, und wie sie Weil und Felix²⁾ besonders eingehend bei X-Baxillen und bei der Typhus-Paratyphusgruppe in den letzten Jahren studiert und näher analysiert haben (Fig. 7 und 8).

Da diese ältere Arbeit von Friedberger nicht an einer leicht zugänglichen Stelle, sondern in einer als Sonderband herausgegebenen Festschrift¹⁾ erschienen ist, so seien hier die Ergebnisse, soweit sie für diese Fragen wesentlich sind, noch einmal kurz zusammengestellt.

Bei einem aus dem Stuhl eines 14jährigen Patienten in der 4. Woche einer überaus schweren Typhusinfektion gezüchteten Typhusstammes (N.) „konnte die auffallende Beobachtung gemacht werden, daß dieser Stamm nur in kleinen, noch eben deutlich sichtbaren Klümpchen agglutinierte, während der (zum Vergleich herangezogene) Laboratoriumsstamm L. die typisch grobe Flockenbildung aufwies“. Dies ist unseres Wissens die erste Beobachtung über das Vorkommen der beiden verschiedenen Agglutinationstypen bei verschiedenen nativen Stämmen einer und derselben Bakterienart.

In Bindungsversuchen mit Typhus-Immunseris verschiedener Tierespezies wurde bereits damals festgestellt, daß es sowohl in den Seris verschiedene Agglutinine gibt als auch daß die beiden Bakterienstämme hierfür verschiedene Rezeptoren haben.

Bei der Verwandtschaftsreaktion, das heißt bei der Einwirkung von Antiserum auf das Eiweiß im System dem Antigen der Vorbehandlung nahestehender Tiere verwischt sich bei der Betrachtung im Agglutinoskop der Typus etwas. Man erkennt zwar, wenn man gleichzeitig die isogenetische und die Verwandtschaftsreaktion im Agglutinoskop betrachtet, deutlich, daß die isogenetischen Präzipitate in der Regel lockerer erscheinen. Beobachtet man aber das einzelne Röhrchen für sich, so ist es unter Umständen schwer zu unterscheiden, ob man die vorliegende Präzipitation als locker oder dicht bezeichnen soll.

1) Friedberger, Festschrift z. 60. Geburtstage E. Salkowskis. Berlin, A. Hirschwald, 1904.

2) Weil und Felix, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, 1920.

Dem entspricht auch das mikroskopische Bild, das deutlich eine Mischung beider Typen zeigt, meist allerdings mit einem Ueberwiegen der lockeren Präzipitate, wobei diese freilich in der Regel kleiner sind als bei der isogenetischen Präzipitation und meist an Zahl erheblich gegenüber den dichteren zurücktreten (s. Fig. 9).

Im Dunkelfeld sieht man im allgemeinen nicht mehr als bei schwacher Vergrößerung im ungefärbten Präparat, weshalb wir auf eine besondere Schilderung der Dunkelfeldverhältnisse verzichten wollen.

Die Differenzen der Flockenbildung sind schon deutlich nach 10 Minuten, das Optimum für die Betrachtung liegt bei den meisten Seris etwa nach 1—2 Stunden. Die Unterschiede halten sich lange, nehmen sogar zuweilen an Deutlichkeit noch über Nacht zu. Am ausgeprochensten ist der Unterschied bei mittleren Verdünnungen des Antigens 1:100, 1:1000. Bei zu starker Verdünnung verschwindet er mehr und mehr. Man darf die Suspensionen nicht zu kräftig schütteln, da sonst namentlich die lockeren Präzipitate leicht auseinanderfallen und sich die Unterschiede so verwischen. Vermeidet man das aber, so bleiben die Differenzen tage-, selbst wochenlang bestehen, besonders wenn man durch Zusatz kleiner Mengen von Farbstoffen zur Suspensionsflüssigkeit das Bakterienwachstum hintanhält.

Bei der Gramfärbung nehmen beide Typen von Präzipitaten die Gegenfärbung an, sie sind also gramnegativ.

Wir bringen im Nachstehenden eine Tabelle über 31 derartige Sera, die sämtlich an Kaninchen durch Vorbehandlung mit den in Stab 3 der Tabelle angegebenen Antigenen gewonnen waren. Wir ließen sie auf das isogenetische (spezifische) und auf verschiedene andere Antigene einwirken. Der Typus der Reaktion ist in Stab 4 und 7 der Tabelle angegeben.

„Locker (klein)“ bedeutet, daß hier die lockeren Flocken sehr klein waren und so nur schwer von den dichten zu unterscheiden sind.

II. Das Verhalten monogener isogenetischer und heterogenetischer präzipitierender Sera bei der Komplementablenkungsreaktion.

Die erste Anwendung der Komplementablenkungsreaktion auf dem Gebiet der Präzipitine verdanken wir Neißer und

Tabelle I.

| Lfd. No. | No. des Kaninchens | Gewicht g | Antiserum vom Kaninchen gegen | Antigen spezifisch | | Antigen | Antigen unspezifisch | |
|----------|--------------------|-----------|-------------------------------|--------------------|-------------------------|---------|----------------------|-----------------|
| | | | | im Agglutinoskop | im Mikroskop | | im Agglutinoskop | im Mikroskop |
| 1 | H 33 | 2700 | Rind | locker | locker (Bänder) | Mensch | dicht | dicht |
| 2 | H 26 | 2100 | Hund | " | locker | Katze | " | " |
| 3 | H 39 | 1500 | Katze | " | " | Hund | " | " |
| 4 | H 43 III | 2000 | Rind | " | " | Hammel | " | locker u. dicht |
| 5 | H 56 | 2400 | Mensch | " | " | Pferd | " | dicht |
| | | | | | | Rind | " | " |
| | | | | | | Ziege | " | " |
| 6 | H 4 | — | Huhn | dicht | locker u. dicht | Hammel | " | dicht u. locker |
| 7 | G 18 | 1800 | Hammel | locker | — | Rind | " | dicht |
| 8 | T 41 | — | " | " | — | " | " | — |
| 9 | H 29 | 1800 | " | " | — | " | " | — |
| 10 | H 30 | 2100 | " | " | — | Ziege | " | — |
| 11 | H 43 I | 2000 | Rind | " | locker | Rind | " | — |
| 12 | H 43 II | 2000 | " | " | " | Hammel | " | locker (klein) |
| 13 | H 55 | 4000 | " | " | " | " | " | u. dicht |
| 14 | H 47 | 2350 | Hammel | " | " | " | " | dgl. |
| 15 | H 51 I | 3400 | " | " | locker u. dicht | Ziege | " | dicht u. locker |
| 16 | H 51 II | 3400 | " | " | locker (klein) | Rind | " | (klein) |
| 17 | H 52 | 2400 | " | locker u. dicht | Bänder u. dicht | " | " | locker |
| 18 | H 54 | 2500 | " | locker | dicht | Rind | dicht u. locker | dicht |
| 19 | H 57 | 2300 | Rind | dicht u. locker | dicht u. locker | " | locker u. dicht | " |
| 20 | H 58 | 2600 | Hammel | locker | locker | Ziege | locker (groß) | dicht u. locker |
| 21 | 124 | 2100 | " | " | " | Rind | dicht | " |
| 22 | H 49 | 2100 | Huhn | locker (klein) | locker u. dicht | Ziege | " | " |
| 23 | H 50 | 2050 | " | locker | — | Rind | " | " |
| 24 | H 64 | 2450 | Hund | " | — | Taube | " | " |
| 25 | — | — | Reh | " | — | Bussard | " | " |
| 26 | — | — | Ziege | " | — | Katze | " | " |
| 27 | H 36 | 2400 | Mensch | " | locker (Bänder) | Rind | " | " |
| 28 | T 20 | — | Pferd | " | locker (Bänder) | Hammel | " | " |
| 29 | H 45 | 2500 | " | locker? (klein) | dicht u. locker (klein) | Hirsch | " | " |
| 30 | H 41 | 2100 | Schwein | " | locker (Bänder) | Reh | " | " |
| 31 | H 48 | 2150 | " | locker | locker u. wenig dicht | Hirsch | " | " |

Sachs¹⁾; sie wurden zu der Ausarbeitung ihrer Methode durch die gründlichen und klassischen Untersuchungen des leider so früh verstorbenen C. Moreschi²⁾ angeregt, dessen wesentlichen Anteil an der Komplementablenkungsreaktion neben dem von Bordet und Gengou jüngst A. Ascoli³⁾ wieder gebührend hervorgehoben hat.

Nach unseren bisherigen Vorstellungen geht die Komplementablenkung im großen und ganzen der Präzipitation parallel, sie ist nur eine, durch die besondere Versuchstechnik bedingte, andersartige Erscheinungsform dieser Reaktion, aber unter Umständen, wie Friedberger⁴⁾ gezeigt hat, vieltausendmal empfindlicher als die Präzipitinreaktion selbst. Praktisch hat sie aber trotz ihrer weiteren Empfehlung durch Schütze⁵⁾ für den Nachweis von Eiweiß in gekochten Würsten und von Bauer und Sachs⁶⁾ zum Nachweis von Eiweißstoffen in Gemischen, obwohl H. Sachs sowie zwei Schüler von Sachs, Rickmann⁷⁾ sowie J. Bauer⁸⁾, auch bereits die größere Spezifität der Komplementablenkungsreaktion gegenüber der Präzipitation betont, keine Anwendung gefunden. Das mag auch durch ihre Umständlichkeit bedingt sein und die zahlreichen Fehlerquellen, auf die Uhlenhuth⁹⁾ besonders aufmerksam gemacht hat, obwohl sich diese durch entsprechende Kontrollen wohl ebensogut ausschalten lassen dürften, wie bei der originären Präzipitinreaktion.

Uns interessierte es nun, Untersuchungen darüber anzustellen, wie sich angesichts der von uns festgestellten zwei völlig verschiedenen Typen von Präzipitaten bzw. Präzipitinen die Komplementablenkungsreaktion mit diesen gestaltet.

Ist sowohl das isogenetische wie das heterogenetische Präzipitin Träger der komplementablenkenden Funktion?

1) Neißer und Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1905, No. 44; 1906, No. 3.

2) Moreschi, Berl. klin. Wochenschr., 1905, No. 37; 1906, No. 4.

3) Ascoli, Wiener klin. Wochenschr., 1922, No. 27.

4) Friedberger, Dtsch. med. Wochenschr., 1906, No. 5.

5) Schütze, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 36, S. 5.

6) Bauer und Sachs, Arb. a. d. kgl. Inst. f. exp. Therapie in Frankfurt a. M., 1907, H. 3, S. 84.

7) Rickmann, ebenda S. 63.

8) Bauer, ebenda S. 71.

9) Uhlenhuth und Weidanz, Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 28, 1908, H. 3.

Untersuchungen an übergreifenden, heterogenetischen Seris mußten eine Entscheidung dieser Frage ergeben. War die Komplementablenkung nur mit dem isogenetischen spezifischen Präzipitin verknüpft, so mußte bei der Komplementablenkung mit dem Antigen, auf das das betreffende Antiserum übergrieff, die Reaktion ausbleiben, sonst müßte sie mit beiden erfolgen. Im ersteren Falle wäre die Komplementablenkung eine Reaktion von höherer Spezifität und würde auch mit übergreifenden Seris eine sichere Diagnose ermöglichen.

Wir haben nun zunächst einen Versuch mit einem Rinderantiserum H 33 angestellt, gewonnen durch Vorbehandlung eines Kaninchens mit Rinderserum, das von den 12 von uns untersuchten Tierseris, außer Rind und der Verwandtschaft, nur noch mit Mensch gleich stark wie mit Rind reagierte. Wir lassen diesen Versuch als Beispiel in extenso folgen.

Kaninchen H 33, 2700 g, ♂, erhält am 1., 6. und 15. III. je 1 ccm Rinderserum iv. Entblutet am 23. III. 1922.

Den Titer mit den isogenetischen und heterogenetischen Antigenen zeigt die nachstehende Tabelle II.

Tabelle II.
Rinderantiserum H 33.

| Antigen- verdünnung | Rind | Ziege | Hammel | Pferd | Schwein |
|------------------------|--------|-------|--------|-----------|-----------|
| 1:100 | + | + | + | — | — |
| 1:1000 | + | ± | ± | — | — |
| 1:10 000 | + | — | — | — | — |
| 1:20 000 | + | — | — | — | — |
| | Mensch | Hund | Katze | Kaninchen | Meerschw. |
| 1:100 | + | — | — | — | — |
| 1:1000 | + | — | — | — | — |
| 1:10 000 | + | — | — | — | — |
| 1:20 000 | + | — | — | — | — |
| | Maus | Huhn | Ente | Gans | Taube |
| 1:100 | — | — | — | — | — |
| 1:1000 | — | — | — | — | — |
| 1:10 000 | — | — | — | — | — |

Das Serum wirkte also auf Mensch genau so stark wie auf Rind, allerdings in abweichendem Typus.

Wir haben nun fallende Verdünnungen jedes dieser beiden Antigene mit je 0,02 ccm des Kaninchenrinderantisera versetzt. Dazu wurde sofort in jedes Röhrchen 0,05 ccm Komplement gefügt, dann wurde die

Mischung 1 Stunde im Brutschrank bei 37° gelassen. Nach Zusatz eines hämolytischen Systems, bestehend aus 1½ Ambozeptoreinheiten (Antihammelblutkaninchenserum) und 1 ccm 5-proz. Aufschwemmung von Hammelblut kamen die Röhrchen erneut in den Brutschrank. Ablesung nach 1 Stunde.

0 = keine Hämolyse; kompl. = komplette Hämolyse.

Das Ergebnis des Versuchs zeigt die nachstehende Tabelle III.

Tabelle III.

Komplementablenkung mit Rinderantiserum H 33.

Titer für Rind 1:20 000, für Mensch 1:20 000.

| Antiserum 1,0:10,0 | Antigen Rind | Kom- plement | Hammel- blut 5-proz. | Ambo- zeptor | Hämolyse nach 1 Std. |
|-----------------------|-----------------|-----------------|-------------------------|-----------------|-------------------------|
| 0,2 | 1:100 | 0,05 | 1 ccm | 1½ f. lös. Dos. | 0 |
| " | 1:1000 | " | dgl. | dgl. | 0 |
| " | 1:10 000 | " | " | " | 0 |
| " | 1:100 000 | " | " | " | 0 |
| " | 1:1 000 000 | " | " | " | 0 |
| " | — | " | " | " | kompl. |
| — | 1:100 | " | " | " | " |
| — | — | " | " | " | " |
| 1 Std. 37° | | | | | |
| Mensch | | | | | |
| 0,2 | 1:100 | 0,05 | 1 ccm | 1½ f. lös. Dos. | kompl. |
| " | 1:1000 | " | dgl. | dgl. | " |
| " | 1:10 000 | " | " | " | " |
| " | 1:100 000 | " | " | " | " |
| " | 1:1 000 000 | " | " | " | " |
| — | 1:100 | " | " | " | " |
| 1 Std. 37° | | | | | |

Es ergibt sich, daß in diesem Falle mit dem isogenetischen Antigen (Rind) eine Komplementablenkung zu verzeichnen war, mit dem heterogenetischen aber keine Spur. Die Komplementablenkung war also hier im Gegensatz zur Präzipitation streng spezifisch. Daß hier kein Spezialfall vorliegt, bedingt durch irgendwelche Verhältnisse der Versuchsanordnung, sondern eine allgemeine Gesetzmäßigkeit, zeigen weitere Versuche mit den verschiedensten übergreifenden Antiseris, in denen übereinstimmend, das gilt natürlich zunächst nur für die von uns hier gewählten Versuchsbedingungen, mit dem isogenetischen spezifischen Eiweiß die Komplementablenkungsreaktion stets positiv war, mit dem heterogenetischen Antigen aber nicht. Ja, sogar in Fällen, in denen der heterogenetische Titer höher war als der isogenetische, war doch die

Komplementablenkung nur mit dem isogenetischen Präzipitin positiv. Als Beispiel sei auf das Serum der nachstehenden Tabelle IV verwiesen.

Es handelt sich um das Serum eines mit Hühnereiweiß gespritzten Kaninchens H 4, das wie folgt behandelt war.

Kaninchen No. H 4, ♀, erhält am 6., 9. und 12. V. 1921 je 1 cem Hühnerserum iv. Blutentnahme am 20. V. 1921. Titer für Huhn 1:1000, Ente 1:1000, Rind 1:20 000, Ziege 1:10 000, Hammel 1:1000.

Tabelle IV.

Komplementablenkungsversuch mit heterogenetisch übergreifenden Antiseris.

Antiserum, Antigen und Komplement 1 Stunde bei 37° im Kontakt, dann Zusatz von sensibilisierten Hammelblutkörperchen.

H. = Hund, K. = Katze, R. = Rind, Hu. = Huhn, Ha. = Hammel, M. = Mensch, Z. = Ziege, Pf. = Pferd.

0 = keine Hämolyse (Ablenkung), kpl. = komplette Hämolyse.

| Verdünnung des Antigens | I. | | II. | | III. | | IV. | |
|-------------------------------|---|-------|--|-------|--|------|---|------|
| | Hunde anti- serum H 26. Präzip. H. und K. 1:20 000. Komplement- ablenkung mit Antigen | | Hunde anti- serum T 3 B. Präzip. H. und K. 1:20 000. Komplement- ablenkung mit Antigen | | Katzen anti- serum H 39. Präzip. K. und H. 1:20 000. Komplement- ablenkung mit Antigen | | Hühner anti- serum H 4. Präzip. Hu. 1:1000, R. 1:20 000. Komplement- ablenkung mit Antigen | |
| | Hund | Katze | Hund | Katze | Katze | Hund | Huhn | Rind |
| 1:100 | 0 | kpl. | 0 | kpl. | 0 | kpl. | 0 | kpl. |
| 1:1000 | 0 | " | 0 | " | 0 | " | 0 | " |
| 1:10 000 | Spur | " | 0 | " | 0 | " | 0 | " |
| 1:100 000 | f. kpl. | " | 0 | " | kpl. | " | kpl. | " |
| 1:1 000 000 | kpl. | " | 0 | " | " | " | " | " |

| Ver- dünnung des Antigens | V. | | | | VI. | | | VII. | |
|------------------------------------|--|------|--------|---------|--|--------|-------|---|--------|
| | Menschen antiserum H 56. Präzip. M. und Ha. 1:20 000, R. und Z. 1:1000. Komplementablenkung mit Antigen | | | | Rinder antiserum H 43. Präzip. R. und Pf. 1:20 000, Ha. 1:10 000. Komplementablen- kung mit Antigen | | | Rinder anti- serum H 33. Präzip. R. u. M. 1:20 000. Komplement- ablenkung mit Antigen | |
| | Mensch | Rind | Hammel | Ziege | Rind | Hammel | Pferd | Rind | Mensch |
| 1:100 | — | kpl. | kpl. | f. kpl. | 0 | 0 | kpl. | 0 | kpl. |
| 1:1000 | 0 | " | " | " | 0 | 0 | " | 0 | " |
| 1:10 000 | 0 | " | " | kpl. | 0 | kpl. | " | 0 | " |
| 1:100 000 | 0 | " | " | " | 0 | " | " | 0 | " |
| 1:1 000 000 | kpl. | " | " | " | 0 | " | " | 0 | " |

Der Titer für das isogenetische Eiweiß betrug hier 1:1000, für Rind aber 1:20000! Trotzdem ist die Komplementablenkung mit Huhn bis zur Verdünnung 10000 positiv, mit Rind nicht einmal bei der Verdünnung 1:100.

Auch in solchen Fällen, in denen ein heterogenetisches Serum nicht nur auf ein entfernt stehendes Eiweiß, sondern auf eine ganze Gruppe übergriff, war die Komplementablenkungsreaktion mit der ganzen Gruppe negativ. Das zeigt z. B. Fall V der vorstehenden Tabelle IV. Hier präzipitierte ein Menschenantiserum H 56 nicht nur gleich stark mit Mensch und Hammel, sondern auch etwas schwächer mit Rind und Ziege; mit keinem der Antigene Rind, Hammel und Ziege war aber eine positive Komplementablenkung zu erzielen.

Da die Versuche vollkommen übereinstimmten, beschränken wir uns darauf, nur eine Uebersichtstabelle über eine Reihe solcher Sera in Tabelle IV zu geben.

Es erschien uns nun weiterhin von Interesse, die Komplementablenkung bei einem Serum zu versuchen, das nicht heterogenetisch auf ein zweites Antigen übergreift, sondern das mit zwei Antigenen gleichzeitig vorbehandelt war, und zwar spritzten wir zu dem Zweck, um einen Vergleich mit dem auf Mensch stark übergreifenden, schon oben erwähnten Rinderantiserum H 33 zu gewinnen, ein Kaninchen unter sonst gleichen Bedingungen mit Rinder- und Menschen-eiweiß zu gleicher Zeit.

Kaninchen No. G 23, 1600 g, ♀, erhält am 5., 12., 19. und 26. IV. 1922 je $\frac{1}{2}$ ccm Menschenserum + $\frac{1}{2}$ ccm Rinderserum iv. Entblutet am 5. V. 1922.

Den Präzipitationstiter für die 12 untersuchten Blutarten zeigt die nachstehende Tabelle V.

Es ist beachtenswert, daß dieses, obwohl durch Vorbehandlung mit Rind und Mensch, also mit mehreren Antigenen gewonnene, wohl deshalb zweckmäßig als polygenes zu bezeichnende Serum Mensch schwächer präzipitiert als das auf Mensch übergreifende „monogene“ Rinderantiserum H 33.

Natürlich präzipitierte das Serum Rind und Mensch in groben Flocken; bis zum Titer 1:1000 war auch eine Reaktion für Hammel und Ziege vorhanden, die zweifellos als

Tabelle V.
Antiserum G 23.

| Antigen- verdünnung | Rind | Ziege | Hammel | Schwein |
|------------------------|-----------|-----------|--------|---------|
| 1 : 100 | + | + | + | ± |
| 1 : 1000 | + | + | + | — |
| 1 : 10 000 | + | — | ± | — |
| 1 : 20 000 | + | — | ± | — |
| | Mensch | Pferd | Hund | Katze |
| 1 : 100 | + | ± | — | — |
| 1 : 1000 | + | — | — | — |
| 1 : 10 000 | — | — | — | — |
| 1 : 20 000 | — | — | — | — |
| | Kaninchen | Meerschw. | Huhn | Taube |
| 1 : 100 | — | — | — | — |
| 1 : 1000 | — | — | — | — |
| 1 : 10 000 | — | — | — | — |
| 1 : 20 000 | — | — | — | — |

Verwandtschaftsreaktion zu deuten ist. Das Ergebnis der Komplementablenkung mit diesem Serum zeigt die nachstehende Tabelle VI.

Tabelle VI.

| Rind-Mensch-Antiserum G 23. Präzip. R. 1 : 20 000, Ha. und M. 1 : 1000. Komplementablenkung mit Antigen | | |
|---|--------|--------|
| Rind | Hammel | Mensch |
| 0 | 0 | 0 |
| 0 | 0 | 0 |
| 0 | kompl. | 0 |
| kompl. | „ | 0 |
| „ | „ | kompl. |

Im Gegensatz zu den Präzipitinen des Kaninchens H 33 ergibt sich hier Komplementablenkung sowohl mit Rind wie mit Mensch, und zwar mit Mensch bedeutend stärker als mit Rind, obwohl der Präzipitationstiter sich umgekehrt verhielt. Es ist aber aus den früheren Versuchen von Friedberger schon bekannt, daß keineswegs die Komplementablenkungsreaktion der sichtbaren Präzipitation parallel läuft, sie kann, wie wir hier für Mensch sehen, viel weiter gehen.

Eine geringere Ablenkung zeigt sich mit dem verwandten Hammeleiweiß (s. unten).

III. Das Verhalten der Verwandtschaftspräzipitine bei der Komplementablenkungsreaktion.

Es ist bei der Präzipitinreaktion bereits darauf hingewiesen, daß sich der Typenunterschied bei dem Uebergreifen auf verwandte Eiweißarten etwas verwischt, daß mehr eine Mischung beider Typen vorliegt, wobei allerdings der dichte in der Regel überwiegt.

Es war nun von Interesse, zu sehen, ob bei der Komplementablenkungsreaktion ähnliche Verhältnisse vorliegen. Da ja nach dem Voraufgegangenen nur die lockeren (spezifischen) Präzipitate die Träger der Komplementablenkung zu sein scheinen, so war auch bei den Verwandtschaftsantigenen, für die, wie eben schon erwähnt, der dichte Typus vorherrschend ist, ein Ausbleiben der Komplementablenkung zu erwarten.

Um diese Frage zu entscheiden, wurde eine Reihe von Anti-Hammel- und Rinderseris untersucht, die an sich innerhalb der von uns geprüften Reihe keine heterogenetische Reaktion zeigten, aber dafür die hier erfahrungsgemäß besonders häufig auftretende gegenseitige Verwandtschaftsreaktion mit Hammel, Rind und Ziege. Wir prüften nun bei diesen Seris die Komplementablenkung einerseits mit dem Antigen der Vorbehandlung, andererseits mit Rind und teilweise auch mit Ziege bzw. Hund. Wir beschränken uns auf eine summarische Zusammenfassung der Ergebnisse in der folgenden Tabelle VII.

Wir bemerken hierzu, daß sämtliche Tiere mit ein und demselben Hammelserum unseres Institutshammels vorbehandelt waren. Die Vorbehandlung geschah in der üblichen Weise mindestens 3-, höchstens 4mal in die Ohrvene.

Ueber den Typus der Präzipitation bei den Verwandtschaftsseris gibt auch Tabelle I Auskunft. Meist war die Präzipitation mit dem Verwandtschaftsantigen schwächer als mit dem homologen, zum Teil gleich (Fall II und III), einmal sogar stärker (Fall I der Tabelle VII auf S. 252).

Ganz unabhängig davon ergab sich aber auch hier in allen Fällen bis auf einen einzigen (Fall X) eine weitgehende Spezifizität der Komplementablenkung gegenüber dem Eiweiß der Vorbehandlung. Nur in Fall X (Hammelantiserum H 58) ist bei einem stärkeren

Tabelle VII.

Komplementablenkung monogener präzipitierender Antihammelseren mit Hammel- und verwandten Eiweißarten in fallender Verdünnung. Versuchsanordnung wie in Tabelle IV.

| Verdünnung des Antigens | I. | | II. | | III. | | IV. | |
|-------------------------------|--|------|---|------|---|------|---|------|
| | Hammel- antiser. G 15. Präzip. Ha. 1:10000, R. 1:20000. Komplement- ablenkung mit Antigen | | Hammel- antiser. H 29. Präzip. Ha. u. R. 1:20000. Komplement- ablenkung mit Antigen | | Hammel- antiser. H 30. Präzip. Ha. u. R. 1:20000. Komplement- ablenkung mit Antigen | | Hammel- antiser. H 47. Präzip. Ha. 1:10000, R. 1:1000. Komplement- ablenkung mit Antigen | |
| | Hammel | Rind | Hammel | Rind | Hammel | Rind | Hammel | Rind |
| 1:100 | 0 | kpl. | — | kpl. | 0 | kpl. | 0 | kpl. |
| 1:1000 | 0 | " | 0 | " | 0 | " | kpl. | " |
| 1:10000 | 0 | " | 0 | " | 0 | " | " | " |
| 1:100000 | kpl. | " | Spur | " | kpl. | " | " | " |
| 1:1000000 | " | " | kpl. | " | " | " | " | " |

| Verdünnung des Antigens | V. | | | VI. | | | VII. | | |
|-------------------------------|---|------|--------|---|------|-------|---|------|-----------------|
| | Hammel anti- serum H 51. Präzip. Ha. 1:20000, R. und Z. 1:1000. Komplement- ablenkung mit Antigen | | | Hammel anti- serum H 52. Präzip. Ha. 1:1000, R. und Z. 1:100. Komplement- ablenkung mit Antigen | | | Hammel anti- serum H 54. Präzip. Ha. 1:20000, R. und Z. 1:1000. Komplement- ablenkung mit Antigen | | |
| | Hammel | Rind | Ziege | Hammel | Rind | Ziege | Hammel | Rind | Ziege |
| 1:100 | — | kpl. | f.kpl. | 0 | kpl. | f.kp. | 0 | kpl. | — |
| 1:1000 | 0 | " | f.kp. | f.kpl. | " | kpl. | 0 | " | wenig gelöst |
| 1:10000 | 0 | " | kpl. | kpl. | " | " | kpl. | " | mäß. |
| 1:100000 | kpl. | " | " | " | " | " | " | " | " |
| 1:1000000 | " | " | " | " | " | " | " | " | kpl. |

| Verdünnung des Antigens | VIII. | | | IX. | | | X. | | |
|-------------------------------|---|------|-----------------|---|------|-------|---|------|-------|
| | Hammel anti- serum H 57. Präzip. Ha. und R. 1:20000, Z. 1:1000. Komplement- ablenkung mit Antigen | | | Hammel anti- serum H 46. Präzip. Ha. und Z. 1:20000, R. 1:1000. Komplement- ablenkung mit Antigen | | | Hammel anti- serum H 58. Präzip. Ha. 1:20000, R. und Z. 1:1000. Komplement- ablenkung mit Antigen | | |
| | Hammel | Rind | Ziege | Hammel | Rind | Ziege | Hammel | Rind | Ziege |
| 1:100 | 0 | kpl. | — | — | kpl. | kpl. | 0 | — | 0 |
| 1:1000 | 0 | " | wenig gelöst | 0 | " | " | 0 | 0 | 0 |
| 1:10000 | kpl. | " | kpl. | kpl. | " | " | 0 | 0 | 0 |
| 1:100000 | " | " | " | " | " | " | kpl. | 0 | kpl. |
| 1:1000000 | " | " | " | " | " | " | " | kpl. | " |

Präzipitationstiter für Hammel die Komplementablenkung für Ziege die gleiche, für Rind sogar noch etwas stärker. Worauf es beruht, vermögen wir nicht zu sagen. Agglutinoskopisch erschienen gerade hier die Verwandtschaftspräzipitate eher dicht. Auch das Antigen der Vorbehandlung kann nicht schuld sein, denn sämtliche Tiere waren, wie schon erwähnt, mit dem Serum des gleichen Hammels vorbehandelt. Aber im allgemeinen ergibt sich doch, daß auch bei der Verwandtschaftsreaktion wenigstens beim Hammelantiserum die Komplementablenkung spezifisch ist.

Anders scheinen, soweit wir aus der nicht sehr großen Zahl der Versuche einen Schluß ziehen können, die Verhältnisse beim Antirinderserum zu liegen, wie die nachstehende Tabelle VIII zeigt. Es handelt sich hier um 3 Antirindersera, und zwar um zwei monogen-polyerge (H 43 und H 55) und um ein polygen erzeugtes (mit Mensch und Rind, G 33), das schon in der Tabelle V und VI erwähnt ist, und das mindestens gegenüber einem der Antigene (Rind) auch als polyerg zu bezeichnen ist, da es Verwandtschaftsreaktion mit Hammel und Ziege zeigt. Dieses Serum ergab nun nicht nur positive Komplementablenkung mit Rind, sondern auch mit Hammel und, wie zu erwarten war, mit Mensch, aber auch bei den beiden monogenen Seris ist die Komplementablenkung hier nicht streng spezifisch, sondern sie greift auf die Verwandtschaft über. So zeigt z. B. das Antirinderserum H 55

Tabelle VIII.

Komplementablenkung: Antirindersera mit Rind und verwandten Eiweißarten. Versuchsanordnung wie in Tabelle IV.

| I. Rinder-Antiserum H 43. Präzip. R. u. Pf. 1:20 000, Ha. 1:10 000. Komplementablenkung mit Antigen | | | II. Rind-Mensch- Antiserum G 23. Präzip. R. 20 000, Ha. u. M. 1:1000. Komplementablenkung mit Antigen | | | III. Rinder-Antiserum H 55. Präzip. R. u. Ha. 1:20 000, Z. 1:1000. Komplementablenkung mit Antigen | | |
|--|--------|--------|---|--------|--------|---|-----------|-----------|
| Rind | Hammel | Pferd | Rind | Hammel | Mensch | Rind | Hammel | Ziege |
| 0 | 0 | kompl. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0 | 0 | " | 0 | 0 | 0 | 0 | f. kompl. | 0 |
| 0 | kompl. | " | 0 | kompl. | 0 | 0 | kompl. | f. kompl. |
| 0 | " | " | kpl. | " | 0 | kpl. | " | " |
| 0 | " | " | " | " | kompl. | " | " | " |

(Tabelle VIII III) geringe Komplementablenkung mit Hammel, und mit Ziege sogar etwas stärker, trotzdem der Titer für Ziege nur 1:1000 beträgt, der für Hammel ebenso weit geht wie der spezifische Titer für Rind, nämlich bis 1:20 000. Ebenso ergibt das in der Tabelle IV IV bereits aufgeführte Antirinder Serum H 43 mit Hammel Komplementablenkung, dagegen nicht mit Pferd, trotzdem der Titer für Pferd ebenso hoch ist wie der für das Erzeugungsantigen, der für Hammel etwas geringer (Tabelle VIII I).

Aus den Versuchen über Komplementablenkung ergibt sich also zusammenfassend, daß die Komplementablenkung bei heterogenetisch übergreifenden Anti-eiweißseris nur mit dem homologen Eiweiß erfolgt und auch bei den auf verwandtes Eiweiß übergreifenden Antiseris scheint das, wenigstens in der Mehrzahl der Fälle und namentlich in den höheren Konzentrationen, so zu sein. In dem gewöhnlichen Sprachgebrauch würde das also heißen, daß die Komplementablenkung (Neißer-Sachssche Reaktion) spezifischer ist als die Präzipitation. Es muß jedoch dazu einschränkend gesagt werden, daß auch die Präzipitation natürlich in gleicher Weise streng spezifisch ist, sofern man nur auf den Typus achtet. Der Träger der Spezifität ist eben der lockere Typus, der wohl auch für die Komplementablenkung verantwortlich zu machen ist. Nur kann man hier sinnfälliger, namentlich bei Verwandtschaftsseris, den Unterschied erkennen, als das häufig aus der gewöhnlichen Betrachtung der Präzipitate möglich ist.

Aber auch bei der Komplementablenkungsreaktion gibt es offenbar fließende Uebergänge, und die Unterschiede gelten nur für die von uns gewählten oder ähnliche Versuchsbedingungen. Unter forcierten Verhältnissen kann man auch mit heterogenetischen Präzipitaten bis zum gewissen Grade Komplementablenkung erzielen. Wenn man nämlich, anstatt wie gewöhnlich, nicht das Komplement zu einer Mischung von Antigen und Antikörper zusetzt, sondern das gesamte abzentrifugierte Präzipitat mit Komplement versetzt, so kann man unter Umständen bei heterogenetischen Seris, bei denen in der gewöhnlichen Versuchsanordnung die Komplementablenkungsreaktion streng spezifisch verläuft, auch mit dem

heterogenetischen Präzipitat eine Komplementablenkung erhalten. Ob das auf den rein quantitativen Verhältnissen beruht und etwa auf eine einfache Adsorption des Komplements durch das dichte Präzipitat zurückzuführen ist oder auf die Komplementbindung durch lockere Flocken, die vielleicht auch in den heterogenetischen Präzipitaten hier und da vorkommen können, sei dahingestellt. Als Beispiel für die eben erwähnte Tatsache sei ein entsprechender Versuch angeführt.

Je 3 ccm Menschenserum und 3 ccm Rinderserum in der Verdünnung 1:100 werden mit je 15 Tropfen monogenem polyergen Rinderantiserum H 33 versetzt, 2 Std. bei 37° gehalten und 3 Std. bei Zimmertemperatur. Dann wird scharf zentrifugiert. Die Bodensätze werden einmal mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen und dann mit Kochsalzlösung im ursprünglichen Volumen aufgeschwemmt. Diese Suspensionen werden mit Kochsalzlösung verdünnt: 1:1, 1:10, 1:100 bis 1 000 000. Ebenso wird der Abguß verdünnt.

Tabelle IX.

| Präzipitat mit Rinderserum | Komplement | Hammelblut | Ambozeptor | Hämolyse nach 1 Std. |
|--|------------|------------|------------------------------|----------------------|
| 1:1 | 0,05 | 0,05 | 1 $\frac{1}{2}$ f. lös. Dos. | 0 |
| 1:10 | " | " | " " " | 0 |
| 1:100—1:1 000 000 | " | " | " " " | kompl. |
| Präzipitat mit Menschenserum | | | | |
| 1:1 | 0,05 | 0,05 | 1 $\frac{1}{2}$ f. lös. Dos. | 0 |
| 1:10—1:1 000 000 | " | " | " " " | kompl. |
| Abguß des Präzipitates mit Rinderserum | | | | |
| 1:100 | 0,05 | 0,05 | 1 $\frac{1}{2}$ f. lös. Dos. | 0 |
| 1:1000 | " | " | " " " | kompl. |
| Abguß des Präzipitates mit Menschenserum | | | | |
| 1:100 | 0,05 | 0,05 | 1 $\frac{1}{2}$ f. lös. Dos. | kompl. |
| Kontrolle | " | " | " " " | 0 |
| " | " | " | " — " | 0 |

Schon der leider so früh verstorbene Weil¹⁾ hat mit einer Reihe von Schülern bei der Agglutination der Paratyphusgruppe konstante Beziehungen zwischen der feinflockigen Agglutination und der Komplementbindung beobachtet. Auch hier war das spezifische Agglutinin das lockerflockende im

1) Weil und Felix, a. a. O.

Tabelle X.
Uebersicht über die Komplementablenkung bei monoge
polyergen (heterogenetischen) Antiseris.

| Lfd. No. | Antiserum vom Kaninchen gegen | No. des Tieres | Antigen | Titer | Aussehen im Agglutinoskop | Aussehen im mikroskopischen Präparat | Komplementablenkung |
|----------|-------------------------------|----------------|-----------------------------------|--|-------------------------------|---|---|
| 1 | Rind | H 33 | Rind Mensch | 1:20 000 1:20 000 | locker dicht | locker (Bänder) dicht | 1:1 000 000 pos. 1:100 neg. |
| 2 | Hund | H 26 | Hund Katze | 1:20 000 1:20 000 | locker dicht | locker dicht | 1:1000 pos. 1:100 neg. |
| 3 | " | T 3 B | Hund Katze | 1:20 000 1:20 000 | — — | — — | 1:1 000 000 pos. 1:100 neg. |
| 4 | Katze | H 39 | Katze Hund | 1:20 000 1:20 000 | locker dicht | locker dicht | 1:10 000 pos. 1:100 neg. |
| 5 | Huhn | H 4 | Huhn Rind | 1:1000 1:20 000 | dicht " | locker u. dicht dicht | 1:1000 pos. 1:100 neg. |
| 6 | Rind | H 43 III | Rind Hammel Ziege Pferd | 1:20 000 1:1000 1:1000 1:20 000 | locker dicht — dicht | locker locker u. dicht — dicht | 1:1 000 000 pos. 1:1000 " — 1:100 neg. |
| 7 | Mensch | H 56 | Mensch Rind Ziege Hammel | 1:20 000 1:1000 1:1000 1:20 000 | locker dicht " " | locker dicht " " " dicht u. locker | 1:10 000 pos. 1:100 neg. 1:100 " 1:100 " |

Tabelle XI.
Uebersicht über die Komplementablenkung bei monogen
polyergen Verwandtschaftsseris.

| Lfd. No. | Antiserum vom Kaninchen gegen | No. des Tieres | Antigen | Titer | Aussehen im Agglutinoskop | Aussehen im mikroskopischen Präparat | Komplementablenkung |
|----------|-------------------------------|----------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|
| 1 | Hammel | G 18 | Hammel Rind | 1:10 000 1:20 000 | locker dicht | — — | 1:10 000 pos. 1:100 neg. |
| 2 | " | T 41 | Hammel Rind | — — | locker dicht | — — | — — |
| 3 | " | H 29 | Hammel Rind | 1:20 000 1:20 000 | locker dicht | — — | 1:10 000 pos. 1:100 neg. |
| 4 | " | H 30 | Hammel Rind | 1:10 000 1:20 000 | locker dicht | — — | 1:10 000 pos. 1:100 neg. |
| 5 | " | H 47 | Hammel Rind | 1:10 000 1:1000 | locker dicht | locker dicht | 1:100 pos. 1:100 neg. |
| 6 | " | H 51 I | Hammel Rind | 1:100 1:100 ± | locker dicht | locker u. dicht " " " | 1:100 pos. 1:100 neg. |
| 7 | " | H 52 | Hammel Rind Ziege | 1:1000 1:1000 1:1000 | locker u. dicht " " " — | locker dicht — | 1:1000 pos. 1:100 neg. 1:100 pos. |

Tabelle XI (Fortsetzung).

| Lfd. No. | Antiserum vom Kaninchen gegen | No. des Tieres | Antigen | Titer | Aussehen im Agglutinoskop | Aussehen im mikroskopischen Präparat | Komplement-ablenkung |
|----------|-------------------------------|--------------------|--|--|---|---|--|
| 8 | Hammel | H 55 | Hammel Rind Ziege | 1:20 000 1:10 000 1:10 000 | locker dicht " | locker locker u. dicht dicht u. locker (wenig kleine Bänder) | 1:10 000 pos. 1:100 000 " 1:10 000 " |
| 9 | " | 124 | Hammel Rind Ziege | 1:20 000 1:20 000 1:20 000 | locker dicht " | locker dicht u. kleine lockere Flocken dgl. | 1:1 000 000 pos. 1:1000 neg. — |
| 10 | " | 54 | Hammel Rind Ziege | 1:20 000 1:1000 1:1000 | locker dicht " | locker dicht " | 1:100 pos. 1:100 neg. 1:100 " |
| 11 | " | H 57 | Hammel Rind Ziege | 1:20 000 1:20 000 1:1000 | dicht u. locker locker (groß) dicht | dicht u. locker " " " " " " | 1:1000 pos. 1:100 neg. 1:100 " |
| 12 | " | T 19 | Hammel Rind Ziege | 1:20 000 ± 1:1000 1:1000 | locker (klein) dicht " | dicht u. etwas locker dicht " | — — — |
| 13 | Rind | H 43 ^I | Rind Hammel | 1:1000 1:1000 | locker dicht | locker locker (klein) u. dicht | 1:100 000 pos. 1:100 " |
| 14 | " | H 43 ^{II} | Rind Hammel | 1:1000 1:1000 | locker dicht | locker locker (klein) u. dicht | 1:10 000 pos. 1:100 neg. |
| 15 | " | H 55 | Rind Hammel Ziege | 1:20 000 1:20 000 1:10 000 | locker dicht " | locker dicht u. locker (klein) locker | 1:10 000 pos. 1:100 " 1:1000 " |
| 16 | Reh | — | Reh Rind Ziege Hammel Hirsch | 1:20 000 — — — — | locker dicht " " " | — — — — — | — — — — — |
| 17 | Ziege | — | Ziege Rind Hammel Hirsch Reh | 1:20 000 1:20 000 1:10 000 — — | locker dicht " " " | — — — — — | — — — — — |
| 18 | Huhn | H 49 | Huhn Tauben | 1:20 000 1:100 | locker (klein) (klein) dicht | locker u. dicht dicht | — — |
| 19 | Hammel | H 46 | Hammel Rind Ziege | 1:20 000 1:1000 1:20 000 | — — — | — — — | 1:1000 pos. 1:100 neg. 1:100 " |
| 20 | " | H 51 ^{II} | Hammel Rind Ziege | 1:20 000 1:1000 — | locker dicht dicht u. locker | locker (klein), Bänder u. dicht dicht dicht u. locker | 1:10 000 pos. 1:100 neg. 1:100 " |

Gegensatz zu den Bakterien der X-Gruppe, wo es das feinflockende ist. Das Verhalten ist nur insofern gegensätzlich, als bei der Komplementablenkung der X 19 sowohl wie der Typhusbazillen die feinen Agglutinine, die morphologisch mehr unseren dichten Präzipitate entsprechen, hier die Träger der komplementablenkenden Funktion sind bzw. diese Form der Reaktion mit ihnen parallel geht.

Eine Uebersicht über sämtliche von uns untersuchten Antisera unter Vergleich von Typus, Titer und Komplementablenkung zeigen die beiden vorstehenden Tabellen X und XI.

IV. Ausfällungsversuche mit heterogenetischen und Verwandtschaftsseris.

Unsere Versuche nach dieser Richtung schließen sich an die von Friedberger und Collier¹⁾ sowie Friedberger und Jarre²⁾ an. In der ersten dieser beiden Arbeiten war gefunden worden, daß das heterogenetische Präzipitin für Hammel aus Pferdeantiseris mit Hammel entfernt werden kann, während das isogenetische (gegen Pferd) nahezu erhalten bleibt. Die weitere Ausdehnung der Versuche mit Jarre auf eine größere Zahl von verschiedenen Seris hatte teilweise entsprechende Resultate ergeben, teilweise aber auch abweichende, was auf eine Verschiedenheit der Präzipitine einzelner Individuen einer und derselben Tierspezies bezogen wurde. Auch ergaben die Versuche mit verschiedenen Präzipitinen des Kaninchens gegenüber ein und demselben Eiweiß bereits eine Verschiedenheit der isogenetischen und heterogenetischen Präzipitine, wie sie nunmehr durch unsere Untersuchungen nach den verschiedensten Richtungen hin endgültig festgelegt ist. Aber auch die übergreifenden Präzipitine des Kaninchens gegenüber ein und demselben Eiweiß mußten je nach Art des (heterologen) Eiweißes, mit dem die Vorbehandlung erfolgt war, als verschieden oder zum Teil mit verschiedener Affinität begabt angesehen werden.

Auch Reeser hat in seiner gründlichen Arbeit Ausfällungsversuche angestellt. Er hat die Untersuchungen an

1) a. a. O.

2) a. a. O.

Verwandtschaftsseris durchgeführt und hat, wie die vorerwähnten Autoren, eine ziemlich erhebliche Adsorption der Verwandtschaftspräzipitine, aber unter diesen Verhältnissen natürlich auch eines großen Teiles der isogenetischen erhalten. Verwandte er statt Blutkörperchen Serum, so fielen die Resultate entsprechend aus.

Auffallend ist, daß gegenüber diesen übereinstimmenden Ergebnissen Manteufel und Beger¹⁾ „durchweg ein vollkommen negatives Resultat hatten“. Sie benutzten neben Blutkörperchen getrocknete Sera und Fibrin. Sie führten diesen Mißerfolg zum Teil auf die Verwendung konzentrierter Sera zurück, hatten aber auch mit verdünnten Seris negative Ergebnisse. Die Autoren schreiben dann weiter:

„Auffälligerweise sind auch die erwähnten Absättigungsversuche mit agglutinierenden Seren bei Benutzung von Kaninchenimmenserum unerklärten Schwierigkeiten begegnet im Gegensatz zu Eselimmenserum. Es ist uns auch hier meistens nicht gelungen, Kaninchensera mit dem homologen Antigen restlos abzusättigen. Worauf diese Erscheinung beruht, wagen wir vorläufig nicht zu entscheiden“ (a. a. O. S. 368).

Diese Ergebnisse sind so vollkommen von denen verschieden, die andere Autoren und auch wir stets mit agglutinierenden Immenseris gehabt haben, daß wir lediglich eine völlig abweichende Technik (sie ist in Einzelheiten nicht beschrieben) annehmen müssen.

Bei unseren neueren Versuchen haben wir nun, um gleichsinnigere Resultate zu erhalten, als sie von Friedberger und Jarre erzielt worden waren, unsere Technik nach verschiedener Richtung hin abgeändert und, wie wir glauben, verbessert.

Zunächst haben wir die Sera nicht unverdünnt ausgefällt, sondern immer in der Verdünnung 1:5, weil ja erfahrungsgemäß, worauf auch Manteufel und Beger hinweisen, die relative Antikörperadsorption an das Antigen proportional der Verdünnung der ersteren auf Grund des Guldberg-Wägeschen Massengesetzes zunimmt (Eisenberg und Volk²⁾).

1) a. a. O.

2) Eisenberg und Volk, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 40, 1902, Heft 1, S. 155.

Die Adsorption geschah wiederum, wie bei den früheren Untersuchungen unseres Instituts, mit Zellen, insbesondere mit Blutkörperchen, schon aus rein technischen Gründen deshalb, weil diese Elemente sich jederzeit leicht wieder ausschleudern lassen. Nur in den Versuchen, in denen wir jetzt mit auf 100° erhitztem Eiweiß arbeiteten, konnten wir ohne weiteres an Stelle der Blutkörperchen auch das koagulierte Serum wegen seiner leichten Ausschleuderbarkeit benutzen. Aber auch in den Adsorptionsversuchen mit nativem Antigen schien es uns erwünschter, an Stelle der in seiner antigenen Funktion von dem Serum ja abweichenden Erythrozyten das erstere zu benutzen. Um aber die Ausschleuderungsmöglichkeit nicht zu verlieren, füllten wir nunmehr absichtlich mit ungewaschenen Blutkörperchen aus, so die Erythrozyten nur als Träger des Serums benutzend.

Nun kommt aber bei der Verwendung verdünnten Antiserums noch eine technische Schwierigkeit hinzu, die nicht ganz zu vermeiden ist. Das ist die unspezifische, rein physikalische Adsorption durch die korpuskulären Elemente des ausfällenden Antigens. In der Arbeit mit A. Collier¹⁾, wo mit konzentriertem Serum gearbeitet wurde, war gezeigt worden, daß native und gekochte Blutkörperchen aus einem heterologen Serum an sich kein Präzipitin adsorbieren. Bei der Verwendung verdünnten Serums, das zum Zweck einer besseren Ausfällung nunmehr gewählt wurde, machte sich aber doch eine Adsorption geltend, und sie trat auch gegenüber Kaolin auf, das aus unverdünntem Serum wohl das Komplement, nicht aber den Ambozeptor [Friedberger und Salecker²⁾] zu binden vermag, während bekanntlich Kaolin in verdünntem Serum auch Antikörper adsorbiert [Andrejew³⁾, Friedberger und Putter⁴⁾.] Diese physikalische, unspezifische Adsorption macht sich besonders bei schwach präzipitierenden Seris und schwach übergreifenden unangenehm bemerk-

1) a. a. O.

2) Friedberger und Salecker, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, 1911, Heft 5.

3) Andrejew, Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt, Bd. 33, 1909.

4) Friedberger und Putter, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 30, 1920, S. 227.

bar, doch werden die Resultate unter Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse dadurch nicht erheblich gestört.

Nach diesen Vorbemerkungen lassen wir nunmehr unsere Ausfällungsversuche folgen.

Das zur Ausfällung bestimmte Antiserum wurde durchgehend in der Verdünnung 1:5 verwandt. Als Adsorbens dienten in den ersten Versuchen noch gewaschene, später ungewaschene Blutkörperchen. Auf je 1 ccm Serum kam 0,1 ccm des Vollblutes. Auch das ungewaschene Blut war scharf zentrifugiert worden und das obenstehende Serum sorgfältig abgesaugt worden, so daß im wesentlichen für die Adsorption nur das Serum in Betracht kam, das an den Blutkörperchen selbst haftete. Kontakt zwischen Serum und Blutkörperchen 1 Stunde 37° unter wiederholtem Aufwirbeln. Dann Ausschleudern der Blutkörperchen.

Bei den Versuchen mit Kaolin wurden 0,05 g zu 5 ccm der Antiserumverdünnung 1:5 hinzugesetzt. Sonst gleiche Versuchsanordnung.

Zunächst wurde das schon vorerwähnte Hundeantiserum T 3 B, das auf Katze gleich stark übergriff, und das Katzenantiserum 47, das umgekehrt auf Hund übergriff, im Ausfällungsversuch näher untersucht. Die vollkommen eindeutigen Ergebnisse sind in den beiden nachfolgenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle XII.
Präzipitation mit Antihundeserum T 3 B.

| Antigen- verdünnung | Serum 1:5 nativ (Kontrolle) | | Antihundeserum T 3 B in der Verdünnung 1:5, ausgefällt mit | | | | | |
|------------------------|-----------------------------------|-------|---|-------|-----------------------------|-------|-----------------------------|-------|
| | | | 3mal gewasch. Hundeblut | | nicht gewasch. Hundeblut | | 3mal gewasch. Katzenblut | |
| | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze |
| 1:100 | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 1:1000 | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 1:10 000 | + | (±) | + | — | — | — | + | — |
| 1:20 000 | + | (±) | + | — | — | — | + | — |

| Antigen- verdünnung | Antihundeserum T 3 B in der Verdünnung 1:5, ausgefällt mit | | | | | | | |
|------------------------|---|-------|-----------------------------|-------|------------------------------|-------|--------|-------|
| | nicht gewasch. Katzenblut | | nicht gewasch. Mauseblut | | nicht gewasch. Taubenblut | | Kaolin | |
| | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze |
| 1:100 | + | — | + | + | + | + | + | + |
| 1:1000 | + | — | + | + | + | + | + | + |
| 1:10 000 | + | — | + | + | + | + | + | + |
| 1:20 000 | + | — | + | — | + | — | + | + |

Die Tabelle zeigt zunächst Unterschiede zwischen gewaschenem und nicht gewaschenem Hundeblut. Es gelingt unter den hier von uns gewählten Bedingungen nicht, aus dem Hundeantiserum durch dreimal gewaschenes Hundeblut die homologen wie die heterologen Präzipitine zu entfernen, und ebensowenig hat gewaschenes Katzenblut irgendeinen Einfluß.

Ganz anders aber liegen die Verhältnisse nun bei Verwendung nicht gewaschenen Blutes. Hier findet in beiden Fällen eine außerordentlich starke Ausfällung statt. (Wir wollen zunächst von den Einzelheiten absehen.) Der Unterschied ist ganz eklatant. Diese Versuche geben uns zugleich, teilweise vielleicht, eine Erklärung für die schwankenden Resultate von Friedberger und Jarre, die möglicherweise auf der von Fall zu Fall ungleichen Entfernung der letzten Serumreste aus den damals gewaschen verwandten Blutkörperchen zurückzuführen sein können.

Was nun die Einzelheiten der Ausfällung mit ungewaschenem Blut anlangt, so ergaben sich sehr interessante Resultate. Das isogenetische Antigen (ungewaschenes Hundeblut) entfernt sowohl das Präzipitin für Hund wie für Katze, das ungewaschene Katzenblut aber nur das Präzipitin für Katze. Andere ungewaschene Blutarten, für deren Spezies kein Präzipitin vorhanden ist, wie Mausblut, Taubenblut, sind ohne Einfluß, und auch das Kaolin vermag in diesem stark wirksamen Serum nicht nachweisbare Mengen von Präzipitinen zu adsorbieren. Im Gegenteil; es scheinen in geringem Grad präzipitationshemmende Elemente adsorbiert zu werden. Dafür spricht die deutlichere Präzipitation in den Endverdünnungen im Vergleich mit den Kontrollen (natives Antiserum).

Analog dem vorigen Versuch und gewissermaßen als ein Spiegelbild stellt sich der nachstehende Ausfällungsversuch unter Verwendung von monogenem Katzenantiserum dar, das polyerg heterogenetisch auf Hund übergreift, wie das vorerwähnte Hundeantiserum auf Katze (Tabelle XIII).

Auch hier sehen wir, daß das isogenetische ungewaschene Blut Iso- und Heteropräzipitine entfernt, das Heteroantigen

Tabelle XIII.
Präzipitation mit Antikatzenserum 47.

| Antigen- verdünnung | Serum 1:5, nativ (Kontrolle) | | Antikatzenserum 47 in der Verdünnung 1:5, ausgefällt mit | | | | | |
|------------------------|------------------------------------|------|---|------|------------------------------|------|----------------------------|------|
| | | | 3mal gewasch. Katzenblut | | nicht gewasch. Katzenblut | | 3mal gewasch. Hundeblut | |
| | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund |
| 1:100 | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 1:1000 | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 1:10 000 | ± | ± | ± | ± | — | — | — | — |
| 1:20 000 | — | — | — | — | — | — | — | — |

| Antigen- verdünnung | Antikatzenserum 47 in der Verdünnung 1:5, ausgefällt mit | | | | | | | |
|------------------------|---|------|-----------------------------|------|------------------------------|------|--------|------|
| | nicht gewasch. Hundeblut | | 3mal gewasch. Hammelblut | | nicht gewasch. Hammelblut | | Kaolin | |
| | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund |
| 1:100 | + | — | + | + | + | — | + | — |
| 1:1000 | + | — | + | — | + | — | + | — |
| 1:10 000 | — | — | — | — | — | — | + | — |
| 1:20 000 | — | — | — | — | — | — | — | — |

aber nur seine eigenen. Da jedoch das Serum an sich schwächer präzipitiert als das vorige, so macht sich auch eine gewisse Adsorptionswirkung durch andere gewaschene wie ungewaschene Blutkörperchen und durch Kaolin geltend, die in erster Linie das übergreifende, wohl schwächere Antigen betrifft. Doch ist die Spezifität des Vorganges im gleichen Sinne wie in dem vorigen Versuch unter Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse bei den Blutkörperchen meist noch deutlich sichtbar.

Mit beiden Seris gelang übrigens auch die Ausfällung in gleicher Weise unter Verwendung von unverdünntem Serum, wie die beiden folgenden Versuche zeigen.

Je 3 ccm unverdünnten Katzenantiserums werden mit ungewaschenen Katzen- und Hundeblutkörperchen ausgefällt. Auf 1 ccm Antiserum werden 3mal nacheinander 0,1 ccm Vollblut in Abständen von $\frac{1}{4}$ Stunde zugesetzt und unter häufigem Umrühren 1 Stunde bei 37° digeriert.

Nach gründlichem Abzentrifugieren wurde das Antiserum mit Hunde- und Katzenserum in der Ringprobe ausgewertet (Tabelle XIV).

Ebenso wird das Antihundeserum T 3 B behandelt (Tabelle XV).

Tabelle XIV.

Präzipitation mit Antikatzenserum 47.

| Antigen- verdünnung | Serum nativ (Kontrolle) | | Katzenantiserum 47 wird ausgefällt mit | | | | | | | |
|------------------------|-------------------------------|------|--|------|------------------------|------|--------------------------|------|-------------------------|------|
| | | | Katzenblut 3mal gew. | | Hundeblut 3mal gew. | | Katzenblut nicht gew. | | Hundeblut nicht gew. | |
| | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund |
| 1:100 | + | + | + | + | + | + | — | — | + | — |
| 1:1000 | + | + | + | + | + | + | — | — | + | — |
| 1:10 000 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 1:20 000 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

Tabelle XV.

Präzipitation mit Antihundeserum T3 B.

| Antigen- verdünnung | Serum nativ (Kontrolle) | | Hundeantiserum T3 B wird ausgefällt mit | | | | | | | |
|------------------------|-------------------------------|-------|---|-------|------------------------|-------|--------------------------|-------|-------------------------|-------|
| | | | Katzenblut 3mal gew. | | Hundeblut 3mal gew. | | Katzenblut nicht gew. | | Hundeblut nicht gew. | |
| | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze |
| 1:100 | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — |
| 1:1000 | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — |
| 1:10 000 | + | + | + | — | + | — | + | — | — | — |
| 1:20 000 | + | + | + | — | + | — | + | — | — | — |

Da jedoch bei anderen Seris die Resultate mit nativem Antiserum nicht immer gleich günstig waren, haben wir späterhin nur verdünnte Sera benutzt.

Neben dieser Versuchsreihe mit streng heterogenetischem Serum bringen wir nun noch zwei Ausfällungsversuche mit monogenen polyergen Seris, in denen neben den heterogenetischen auch Verwandtschaftspräzipitine gegenüber den von uns geprüften 12 Antigenen nachweisbar waren.

Wir lassen zunächst einen Versuch mit Hühnerantiserum T 2 folgen, das auf Hund, Katze und Pferd heterogenetisch übergriff; jedoch ist in der Verdünnung 1:5 diese Präzipitation nur noch gering. Aber auch hier sehen wir immer noch deutlich, daß das ungewaschene isogenetische Antigen alles, das heterogenetische aber, ähnlich wie das schon bei Friedberger und Jarre beobachtet worden ist, nicht nur sein Präzipitin, sondern alle heterogenetischen ausfällt (also neben Hund auch Katze und Pferd).

Tabelle XVI.
Präzipitation mit Antihühner serum T2.

| Antigen | Serum nativ 1:5 (Kontrolle) | | | | Antiserum ausgefällt mit ungewasch. Hühnerblutk. | | | | Antiserum ausgefällt mit ungewasch. Hundeblutk. | | | | Antiserum ausgefällt mit Kaolin | | | |
|------------|-----------------------------------|--------|---------|---------|---|--------|---------|---------|--|--------|---------|---------|---------------------------------------|--------|---------|---------|
| Verdünnung | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 |
| Huhn | + | + | — | — | — | — | — | — | + | + | — | — | + | — | — | — |
| Ente | + | ± | — | — | — | — | — | — | + | ± | — | — | ± | — | — | — |
| Taube | ± | — | — | — | — | — | — | — | ± | — | — | — | — | — | — | — |
| Hund | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Katze | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Pferd | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

Auch das Kaolin machte bei diesem in der Verdünnung nur noch relativ schwach präzipitierenden Serum seine Wirkung geltend, die sich nun mehr oder weniger auf alle Präzipitine erstreckt¹⁾.

Ein weiterer Versuch wurde mit einem wirksamen Ziegenantiserum angestellt, das innerhalb der bekannten Verwandtschaftsreihe und außerdem heterogenetisch relativ schwach auf Pferd, Schwein und Mensch wirkte. Leider konnten wir damals mit Ziegenantigen selbst nicht ausfällen, da uns eine Ziege gerade nicht zur Verfügung stand. (Siehe Tabelle XVII).

Der Versuch zeigt auch wieder, daß ein heterogenetisches Antigen (ungewaschenes Schweineblut) alle heterogenetischen Präzipitine entfernte, nicht aber die Verwandtschaftspräzipitine, während ein Verwandtschaftsantigen (ungewaschenes Rinderblut) sich wie das isogenetische verhält.

Angeichts des Resultats der Kaolinversuche und der Ausfällung mit Mäuse- und Taubenblut konnte man allerdings geneigt sein, die Ausfällung mit ungewaschenem Schweineblut lediglich auf einfache Adsorptionswirkung zurückzuführen. Wenn wir auch annehmen müssen, daß diese hier interferiert, so sprechen doch die früheren Versuche mit unverdünntem Serum (Friedberger und Jarre), die ähnliche Ergebnisse

1) Es sei noch darauf hingewiesen, daß es sich hier um ein sehr altes (12 Jahre altes) präzipitierendes Serum handelt.

Tabelle XVII.
Präzipitation mit Antiziegenserum T 12.

| Antigen | Serum nativ 1:5 (Kontrolle) | | | | ausgefällt mit unge- waschenen Schweine- blutkörperchen | | | | ausgefällt mit un- gewaschenen Rinder- blutkörperchen | | | |
|-----------------|--------------------------------|--------|---------|---------|---|--------|---------|---------|---|--------|---------|---------|
| Ver- dünnung | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 |
| Ziege | + | + | + | — | + | + | + | — | + | — | — | — |
| Rind | + | + | + | + | + | + | + | ± | — | — | — | — |
| Hammel | + | + | + | — | + | + | ± | — | — | — | — | — |
| Pferd | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Schwein | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Mensch | + | ± | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

| Antigen | ausgefällt mit Kaolin | | | | ausgefällt mit un- gewaschenen Mause- blutkörperchen | | | | ausgefällt mit un- gewaschenen Tauben- blutkörperchen | | | |
|-----------------|--------------------------|--------|---------|---------|--|--------|---------|---------|---|--------|---------|---------|
| Ver- dünnung | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 |
| Ziege | + | + | — | — | + | + | + | — | + | + | + | — |
| Rind | + | + | ± | — | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Hammel | + | + | — | — | + | + | — | — | + | + | — | — |
| Pferd | — | — | — | — | — | — | — | — | (±) | (±) | — | — |
| Schwein | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | ± | — | — |
| Mensch | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

gezeitigt hatten, mehr dafür, daß tatsächlich ein heterogenetisches Antigen alle heterogenetischen Präzipitine entfernt.

Die Tatsache, daß man in heterogenetischen, übergreifenden Antiseris mit dem heterogenetischen ungewaschenen Blut die heterogenetischen Präzipitine vollkommen entfernen kann unter nahezu quantitativer Erhaltung des isogenetischen, ist auch für die Praxis wichtig, denn solche Sera werden durch dieses einfache Vorgehen streng spezifisch.

Da andererseits das isogenetische ungewaschene Blut alle Präzipitine entfernt, so dürfen wir schließen, daß bei dem übergreifenden heterogenetischen Antigen nur den dichten, bei dem homologen aber den dichten und lockeren Präzipitinen entsprechende Rezeptoren in Wirksamkeit treten, und daß gegenüber dem homologen Eiweiß nicht nur lockere, sondern auch,

in von Fall zu Fall wechselnder Menge, dichte Präzipitine vorhanden sein dürften, die durch die lockeren wohl meist überlagert sind.

Dem entspricht auch das mikroskopische Aussehen der gefärbten lockeren Präzipitate, in denen wir neben den typischen lockeren Flocken nach einiger Zeit hie und da Gebilde gesehen haben, wie sie für die dichten heterogenetischen und Verwandtschaftspräzipitate charakteristisch, bzw. dort in der Ueberzahl vorhanden sind.

Wenn man nämlich lockere und dichte Präzipitate mit verdünnter Fuchsin-, Methylenblau- oder Kristallviolett-Lösung versetzt, mehrere Tage lang stehen läßt, wobei im Gegensatz zu den nicht mit Farbstoff versetzten das Bakterienwachstum gehemmt wird, so werden die lockeren Präzipitate noch größer und massiger, es erscheinen dann aber auch zwischen und in ihnen zahlreiche dichte Klümpchen, während bei den dichten Präzipitaten (den heterogenetischen) keine Änderungen zu bemerken sind.

Wir haben nun weiterhin Ausfällungsversuche mit auf 100° erhitztem Antigen angestellt, und zwar haben wir ungewaschene Blutkörperchen 10 Minuten gekocht. Das Ergebnis zeigt die nachstehende Tabelle.

Je 5 ccm Antirinder Serum H 33, 1:5 verdünnt, werden mit 1 ccm ungewaschenen Rinder- und Menschenblutkörperchen, die 10 Minuten gekocht und dann möglichst gleichmäßig emulsiert werden, 1 Stunde bei 37° digeriert. Zentrifugieren; Auswertung der Abgüsse.

Tabelle XVIII.
Präzipitation mit Antirinder Serum H 33.

| Verdünnung | Serum nativ 1:5 (Kontrolle) | | | | Antiserum ausgefällt mit ungewaschenen Rinderblutkörperchen | | | | Antiserum ausgefällt mit ungewaschenen Menschenblutkörperchen | | | | Antiserum ausgefällt mit ungewaschenen Menschenblutkörperchen 10' 100° | | | | Antiserum ausgefällt mit ungewaschenen Rinderblutkörperchen 10' 100° | | | |
|------------|-----------------------------|--------|---------|---------|---|--------|---------|---------|---|--------|---------|---------|--|--------|---------|---------|--|--------|---------|---------|
| | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 |
| Rind | + | + | + | + | — | — | — | — | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Ziege | + | + | — | — | — | — | — | — | ± | — | — | — | + | + | — | — | + | + | — | — |
| Hammel | + | + | — | — | — | — | — | — | + | — | — | — | + | + | — | — | + | — | — | — |
| Mensch | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | + | + | + | + | + | + | + | + |

Die Ausfällung mit nativen, ungewaschenen, isogenetischen Blutkörperchen (Stab 3 der Tabelle XVIII) gibt eine Bestätigung der früheren Versuche. Das spezifische Präzipitin, die Verwandtschaftspräzipitine und das heterogenetische gehen ganz heraus. Mit ungewaschenen heterogenetischen Blutkörperchen dagegen (Stab 4) gelingt es, das Antiserum nahezu ganz spezifisch zu machen.

Mit den erhitzten Blutkörperchen, den isogenetischen sowohl wie den heterogenetischen (Stab 5, 6), tritt jedoch keine Ausfällung der Präzipitine ein.

Es wäre verfrüht, daraus zu schließen, daß durch das Erhitzen auf 100° die bindenden Gruppen vollständig zerstört würden. Daß das nicht der Fall ist, zeigen die Versuche, in denen wir statt der erhitzten Blutkörperchen das Serum selbst kochten, es dann sehr fein zerkleinerten und danach mit unserem Antiserum in Kontakt brachten. Es gelang uns auf diese Weise bei dem Menschenantiserum H 56, das auf Hammel, Rind und Ziege übergriff, durch gekochtes isogenetisches wie heterogenetisches Serum lediglich die heterogenetischen Präzipitine dem Antiserum zu entziehen. Das zeigt der folgende Versuch.

Es wurden je 5 ccm Menschenantiserum H 56 in der Verdünnung 1:5 mit 0,5 ccm Menschen- und Hammelserum, das 10 Minuten auf 100° erhitzt und dann sehr fein zerkleinert war, 1 Stunde bei 37° in Kontakt gelassen. Nach Abzentrifugieren wurde das Antiserum mit den entsprechenden Antigenverdünnungen angesetzt (siehe Tabelle XIX).

Tabelle XIX.

Präzipitation mit Antimenschenserum H 56.

| Antigen | Serum nativ 1:5 (Kontrolle) | | | | Antiserum ausgefällt mit Menschenserum 10' 100° | | | | Antiserum ausgefällt mit Hammelserum 10' 100° | | | |
|---------|--------------------------------|--------|---------|---------|---|--------|---------|---------|---|--------|---------|---------|
| | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 |
| Mensch | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Hammel | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Rind | + | + | + | ± | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Ziege | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

Auch in dem folgenden Versuch mit Antikatzenserum H 39 gelang es auf dieselbe Weise, mit 10 Minuten gekochtem Hunde- und Katzenserum die Präzipitine für Hund aus dem Serum herauszuziehen, also das Serum spezifisch zu machen (siehe Tabelle XX).

Tabelle XX.
Präzipitation mit Antikatzenserum H 39.

| Antigen- ver- dünnung | Serum nativ 1:5 (Kontrolle) | | Antiserum aus- gefällt mit Katzenserum 10' 100° | | Antiserum aus- gefällt mit Hundeserum 10' 100° | | Antiserum aus- gefällt mit Rinderserum 10' 100° | |
|-----------------------------|-----------------------------------|------|--|------|---|------|--|------|
| | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund | Katze | Hund |
| 1:100 | + | + | + | — | + | — | + | + |
| 1:1000 | + | + | + | — | + | — | + | + |
| 1:10 000 | + | + | + | — | + | — | + | ± |
| 1:20 000 | + | + | + | — | + | — | + | ± |

Daß es sich hier nicht um Adsorptionerscheinungen handelt, zeigt die Ausfällung mit gekochtem Rinderserum (Stab 5 der Tabelle XVIII), die das Antiserum vollständig unbeeinflusst läßt.

Die Ausfällungsversuche mit erhitztem Antigen (Serum) weichen vollkommen von denen mit unerhitztem (ungewaschene Blutkörperchen) ab. Während unerhitzt das isogenetische Antigen Iso- und Heteropräzipitine entfernt, das Heteroantigen nur die Heteropräzipitine, vermag das erhitzte Antigen als Serum, einerlei, ob es „Iso“ oder „Hetero“ ist, lediglich die heterogenetischen Präzipitine zu adsorbieren. Mit anderen Worten: das isogenetische Präzipitin hat zu dem gekochten Antigen keine Affinität mehr. Auf diese Weise stellt sich die Ausfällung mit gekochtem Antigen als die bis heute beste Methode dar, um ein monogen-polyerges Serum spezifisch zu machen.

Zusammenfassung.

1) Bei Behandlung eines Tieres der Spezies A mit einem Antigen (monogen) der Spezies B tritt keineswegs regelmäßig ein Serum auf, daß nur (isogenetisch) auf die Spezies A und „verwandte“ Eiweißarten wirkt, sondern ein solches Serum

kann auch scheinbar wahllos auf andere im phylogenetischen System fernstehende Eiweißarten (Friedberger-Collier, Friedberger-Jarre, Reeser, eigene Untersuchungen) übergreifen („heterogenetische“, „monogen-polyerge“ Sera).

Die praktische Verwendung der Präzipitation wird dadurch unter Anwendung der von Uhlenhuth angegebenen Kontrollen nicht gestört.

2) Ein Uebergreifen haben wir bei 47 Proz. der präzipitierenden Sera beobachtet, und zwar in 13,5 Proz. bis zur Titergrenze für das Antigen der Vorbehandlung.

3) Die isogenetischen Präzipitate unterscheiden sich morphologisch von den heterogenetischen. Die ersteren erscheinen im Agglutinoskop bzw. Mikroskop grau, wabig, locker und grobflockig, die letzteren weißlich, dicht und feinflockig. Außerdem sieht im Agglutinoskop die Zwischenflüssigkeit bei den lockeren Präzipitaten trübe, bei den dichten klar aus. Bei den Präzipitaten der Verwandtschaftsreaktion haben wir eine Vermischung der beiden Typen, allerdings meist mit einem Ueberwiegen des lockeren Typus.

4) Die Komplementablenkungsreaktion mit monogen-polyergen Seris ist unter den von uns gewählten Bedingungen nur positiv mit dem isogenetischen Antigen; sie tritt also spezifischer in Erscheinung als die Präzipitation. Sie ist es aber nicht, wenn man als spezifisch nur die lockere Präzipitation ansieht.

5) Bei auf Verwandtschaftseiweiß übergreifenden monogen-polyergen Seris ist die Spezifität der Komplementablenkung weniger ausgesprochen. Sie war in der Regel vorhanden bei Antihammeleiweißseris, weniger bei Antirindereiweißseris.

6) In Weiterführung der Ausfällungsversuche von Friedberger und Collier, Friedberger und Jarre, Reeser mit heterogenetischen und Verwandtschaftsseris und den betreffenden Antigenen ergaben sich regelmäßiger Resultate, nachdem die Ausfällungen nicht mehr mit gewaschenen, sondern mit ungewaschenen Blutkörperchen vorgenommen wurden, wobei diese nur als ausschleuderbare Träger der anhaftenden und die Ausfällung bewirkenden Serummengen dienten. Dabei wurden nunmehr eindeutig folgende Befunde erhoben:

a) Das isogenetische Antigen (ungewaschene Blutkörperchen) entfernt sowohl das Iso- wie das Heteropräzipitin, das heterogenetische Antigen nur die Präzipitine für heterogenetische, und zwar für alle heterogenetischen Eiweißarten, so daß man auf diese Weise Sera für die Praxis spezifischer machen kann.

b) Das Verwandtschaftsantigen verhält sich im großen und ganzen wie das isogenetische.

c) Gekochtes Antigen (Serum) entzieht, einerlei ob es isogenetisches oder heterogenetisches Eiweiß ist, lediglich alle heterogenetischen Präzipitine.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Isogenetisches (spezifisches) (links), heterogenetisches (rechts) Präzipitat im Agglutinoskop. 6fache Lupenvergrößerung bei halbdurchfallendem Licht. Isogenetisches Präzipitat locker, grobflockig, Zwischenflüssigkeit trübe. Heterogenetisches Präzipitat feinflockig, dicht, Zwischenflüssigkeit klar.

Fig. 2. Lockeres isogenetisches (spezifisches) Präzipitat Rinderserum + Kaninchen-Antirinderserum H 43, Objektträgersausstrich mit Osmiumdämpfen fixiert, Fuchsinfärbung. Zeiß-Okular I, Objektiv AA.

Fig. 3. Dasselbe wie Fig. 2, jedoch gleichzeitiges Auftreten von Bandformen.

Fig. 4. Mikrophotographische Aufnahme des ungefärbten lockeren Präzipitates. Leitz-Objektiv 24. Man sieht neben den schwarz erscheinenden großen lockeren Flocken zahlreiche kleine Mizellen, auf die wohl das trübe Aussehen der Zwischenflüssigkeit in den lockeren Präzipitaten zurückzuführen ist.

Fig. 5. Heterogenetisches Präzipitat. Hundeantiserum H 26 + Katzenantigen. Fixation, Färbung und Vergrößerung wie bei Fig. 2. Dichte Präzipitate, feine staubförmige Mizellen.

Fig. 6. Photogramm des gleichen heterogenetischen Präzipitates. Vergrößerung wie bei Fig. 4. Zwischenflüssigkeit im Gegensatz zu Fig. 4 klar.

Fig. 7. Photogramm der Agglutination der H-Form des Bazillus X 19 in Tröpfchen auf Objektträger. (Vergrößerung wie bei Fig. 4.)

Fig. 8. Photogramm der Agglutination der O-Form des Bazillus X 19.

Fig. 9. Präzipitat aus Rinderantiserum H 43 und Hammelantigen. Fixation, Färbung und Vergrößerung wie bei Fig. 2 usw. Es überwiegen die dichten Flocken, daneben lockere Flocken von geringerer Anzahl und kleinerem Ausmaß als bei Fig. 2.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald.]

Ueber die Häufigkeit des Vorkommens heterogenetischer Präzipitine.

Von Dr. **Gertrud Meißner**,
Hilfsassistentin am Hygiene-Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. August 1922.)

Die Untersuchungen, über die in der vorigen Arbeit berichtet worden ist, und unsere weiteren Versuche in der gleichen Richtung gaben die willkommene Gelegenheit, an einem für die heutige Zeit reichen Material von Antieiweißseris Untersuchungen über die Häufigkeit des Vorkommens monogener polygener präzipitierender Sera anzustellen, und auch zugleich das zeitliche Auftreten der Heteropräzipitine zu untersuchen.

Derartige Untersuchungen erscheinen um so erwünschter, als nach den vorausgegangenen Arbeiten aus unserem Institut von Friedberger und Collier¹⁾, Friedberger und Jarre²⁾ mannigfache irrthümliche Auffassungen über die Häufigkeit des Vorkommens solcher Sera zu bestehen schienen, indem einzelne Autoren [z. B. Manteufel und Beger³⁾], wie schon in der vorigen Arbeit erwähnt ist, übersehen, daß es sich in diesen Arbeiten nur um eigens ausgesuchte, übergreifende Sera handelte, da es ja unsere Absicht war, lediglich das Wesen des Uebergreifens, unabhängig von der Häufigkeit des Vorkommens, zu untersuchen. Doch habe ich nunmehr auf Anregung von Herrn Professor Friedberger auch die Frage der Häufigkeit des Vorkommens solcher Sera an unserem Material studiert.

Ich möchte im folgenden ganz kurz einen Ueberblick über die von uns im Laufe des letzten Jahres hergestellten und die noch vorhandenen älteren Antisera geben⁴⁾.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 28, 1919.

2) Ebenda, Bd. 30, 1920.

3) Ebenda, Bd. 33, 1921.

4) Die Zahlen sind bei der Korrektur noch weiter ergänzt.

Technik: Möglichst ausgewachsene, kräftige Kaninchen wurden teils in 4tägigen, meist in 7tägigen Intervallen mit je 1 ccm Serum iv. gespritzt. Gewöhnlich waren 3—4 Injektionen nötig, bis die gewünschte Titerhöhe erreicht war. Blutentnahme stets 8 Tage nach der letzten Behandlung. Zur Behandlung wurde nur frisches Serum verwandt.

Die Titerprüfung geschah mittels Ringprobe mit 12 verschiedenen Seris — Mensch, Rind, Ziege, Hammel, Pferd, Schwein, Hund, Katze, Kaninchen, Meerschweinchen, Huhn und Taube — in den Antigenverdünnungen 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:20000 für das isogenetische wie für das hetero-

Tabelle I.
Antimenschensera.

| Lfd. No. | Kan. No. | Gewicht g | Behandlung | Spez. Titer | | | | Uebergreifen |
|----------|----------|--------------|---|-------------|--------|---------|---------|--|
| | | | | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | |
| 1 | H 16 | | | + | + | + | + | Huhn 1000 +, Schwein, Ente 100 + |
| 2 | H 22 | 2450 | 21., 28. XII. 21, 5., 14., 28. I., 13. II., 1. III. 22 | + | + | — | — | |
| 3 | H 25 | 2500 | 13., 18., 25. II., 6., 15. III. 22 | + | + | + | ± | Rind 100 + |
| 4 | H 36 | 2400 | 24., 31. III., 8., 18. IV. 22 | + | + | + | ± | |
| 5 | H 37 | 2500 | 24., 31. III., 8., 18. IV. 22 | + | + | — | — | |
| 6 | H 56 | 2600 | 28. IV., 3., 8. V. 22 | + | + | + | + | Hammel 20000 +, Rind 1000 +, Ziege 100 + |
| 7 | H 60 | 1600 | 23., 27., 31. V., 8., 17., 26., VI., 3., 8., 15., VII. 22 | + | + | — | — | |
| 8 | H 61 | 1600 | 29. VI., 3., 8., 15., VII. 22 | + | + | — | — | |
| 9 | H 62 | 1890 | 29. VI., 3., 8., 15., VII. 22 | + | + | + | + | |
| 10 | 149 | 2400 | 23., 27., 31. V., 8., 17., 26. VI., 3., 8., 15. VII. 22 | + | + | — | — | |
| 11 | H 66 | 2500 | 31. VII., 4., 9., 18., VIII. 22 | + | + | — | — | |
| 12 | H 67 | 2400 | 31. VII., 4., 9., 18., VIII. 22 | + | + | + | + | |
| 13 | H 69 | 2150 | 18., 23., 29. X. 22 | + | + | + | + | |
| 14 | I 3 | 2090 | 1., 5., 12., XII. 22 | + | + | + | + | |

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 36.

18

genetische Antigen. Ablesung sofort, nach 5 und nach 10 Minuten, aufgezeichnet wurde die Ablesung nach 10 Minuten.

Von älteren Antiseren waren 5 vorrätig, aus dem Jahre 1921 stammten 16 und frisch hergestellt wurden 1922 30, so daß mir im ganzen 51 Antisera zur Verfügung standen.

Ich lasse nunmehr zunächst in Uebersichtstabellen die Ergebnisse der Untersuchungen der verschiedenen Antisera mit den erwähnten Antigenen folgen. Dabei sind von den übergreifenden immer nur diejenigen Antigene angeführt, die eine positive Reaktion ergaben.

Elf Antimenschensera, von denen sechs allerdings nur einen Titer von 1:1000 aufwiesen, waren streng spezifisch, während No. 1 mit Schweineserum 1:100 mit Huhn und Ente 1:1000

Tabelle II.
Antirindersera.

| Lfd. No. | Kan. No. | Gewicht g | Behandlung | Spez. Titer | | | | Uebergreifen |
|----------|----------|--------------|---------------------------------------|-------------|--------|---------|---------|--|
| | | | | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | |
| 1 | H 14 | — | 13., 20., 24. X., 1. XI. 21 | + | + | + | + | Hammel 1000 +, Ziege 100 + |
| 2 | H 6 | — | 9., 12., 19. V. 21 | + | + | — | — | Hammel 100 +, Ziege 1000 ± |
| 3 | 496 | — | 25., 28. XI., 17. XII 19 | + | + | + | + | Hammel 1000 +, Ziege 2000 +, Mensch, Schwein, Katze 100 + |
| 4 | H 33 | 2700 | 1., 6., 15. III. 22 | + | + | + | + | Hammel, Ziege 1000 ±, Mensch 20000 + |
| 5 | H 23 | 2200 | 28. I., 4., 11., 18. II. 22 | + | + | + | + | Hammel, Ziege 1000 +, Mensch, Pferd, Schwein, Katze 100 + |
| 6 | H 43 | 2000 | 30. III., 6., 12., 19., 26. IV. 22 | + | + | + | + | Hammel 10000 +, Ziege 1000 +, Pferd 20000 +, Schwein 100 + |
| 7 | H 55 | 4000 | 28. IV., 3., 8., 15. V. 22 | + | + | + | + | Hammel 20000 +, Ziege 1000 +, Schwein 100 + |
| 8 | G 26 | 1600 | 5., 8., 12., 15., 19. IV. 22 | + | + | — | — | Hammel, Ziege 100 + |
| 9 | H 72 | 2020 | 23., 29. X., 2. XI. 22 | + | + | + | + | Hammel, Ziege 10000 +, Reh, Mensch, Katze, Schwein 1000 + |
| 10 | H 73 | 2100 | 23., 29. X., 2. XI. 22 | + | + | + | + | Hammel, Ziege 10000 +, Reh, Katze, Hund, Mensch 1000 +, Schwein 1000 ±, Pferd 100 + |
| 11 | V 1 | 2200 | 2., 7., 15. XII. 22 | + | + | + | + | Ziege 10000 +, Hammel, Reh 1000 + |
| 12 | V 1a | 2100 | 2., 7., 15. XII. 22 | + | + | + | + | Hammel 10000 +, Ziege, Reh 1000 + |

eine Ringreaktion gab, No. 3 mit Rind 1:100, No. 6 aber mit Hammelserum bis zur Antigenverdünnung 1:20 000 ebenso schnell und ebenso stark reagierte wie mit der entsprechenden spezifischen Antigenverdünnung. Auch die verwandten Tierarten gaben hier eine positive Reaktion, allerdings nur bis zur Verdünnung 1:1000. (Siehe Tabelle I auf S. 273.)

Verwandtschaftsreaktion zeigten alle 12 Antirindersera in verschiedenen Stärken, 5 von ihnen, No. 1, 2, 8, 11 und 13 gaben keine heterogenetischen Präzipitine, 2 und 8 wiesen allerdings nur einen Titer von 1:1000 auf, No. 3 ergab mit Mensch, Schwein, Katze in der Verdünnung 1:100 deutliche Reaktion, ebenso No. 5, das noch mit Pferdeantigen 1:100 positiv reagierte. No. 9 gab mit Mensch, Katze und Schwein in der Verdünnung 1:1000 eine ausgesprochene Reaktion, während No. 10 mit Katze, Hund, Mensch 1:1000 und mit Pferd 1:100 deutlich,

Tabelle III.
Antihammelsera.

| Lfd. No. | Kan. No. | Gewicht g | Behandlung | Spez. Titer | | | | Uebergreifen |
|----------|----------|-----------|--|-------------|--------|----------|----------|---|
| | | | | 1:100 | 1:1000 | 1:10 000 | 1:20 000 | |
| 1 | H 1 | — | 21., 28. IV., 6. V. 21 | + | + | + | + | Rind, Ziege 20 000 + |
| 2 | G 18 | 1800 | 7., 12., 18., 23. I. 22 | + | + | + | + | Rind, Ziege 10 000 +, Mensch, Pferd, Schwein, Katze 100 + |
| 3 | H 29 | 1800 | 18. II., 1., 8. III. 22 | + | + | + | + | Rind, Ziege 20 000 +, Schwein 100 + |
| 4 | E 2 | 1900 | 1., 5., 9., 16. XII. 22 | + | + | + | + | Rind, Ziege 20 000 +, Mensch, 100 +, Schwein, Hund 100 + |
| 5 | H 30 | 2100 | 18. II., 1., 8. III. 22 | + | + | + | — | Rind 20 000 +, Ziege 10 000 + |
| 6 | H 46 | 2300 | 8., 12., 18., 25. IV., 3., 10. V. 22 ¹⁾ | + | + | + | + | Rind 1000 +, Ziege 20 000 + |
| 7 | H 47 | 2350 | 8., 12., 18., 25. IV. 22 | + | + | + | + | Rind, Ziege 1000 + |
| 8 | H 52 | 2400 | 24., 28. IV., 3. V. 22 | + | + | + | + | Rind, Ziege 1000 + |
| 9 | H 51 | 3400 | 24., 28. IV., 1., 10., 15. V. 22 | + | + | + | + | Rind, Ziege 1000 + |
| 10 | H 54 | 2500 | 28. IV., 3., 8., 15. V. 22 | + | + | + | + | Rind, Ziege 1000 + |
| 11 | H 57 | 2300 | 28. IV., 3., 8., 15. V. 22 | + | + | + | + | Rind 20 000 +, Ziege 1000 + |
| 12 | H 58 | 2600 | 28. IV., 3., 8. V. 22 | + | + | + | + | Rind 10 000 +, Ziege 1000 + |
| 13 | 124 | 2100 | 28. IV., 3., 8. V. 22 | + | + | + | + | Rind 20 000 +, Ziege 20 000 + |
| 14 | H 75 | 2800 | 29. X., 3., 7., 17. XI., 6. XII. 22 | + | + | + | + | Rind, Ziege, Reh 10 000 +, Schwein 100 +, Mensch 100 + |

1) 25. IV. 22 Partus.

18*

mit Schwein 1:1000 nur schwach reagierte. No. 7 zeigte nur mit Schwein 1:100 eine Reaktion, No. 4 aber reagierte mit Menschenantigen 1:20000 ebenso stark und ebenso schnell wie mit Rinderantigen in der gleichen Verdünnung, und No. 6 wies mit Pferdeantigen bis zur Verdünnung 1:20000 dieselbe kräftige Reaktion auf wie mit dem spezifischen Antigen, außerdem zeigte es noch eine positive Reaktion mit Schweineantigen 1:100. (Siehe Tabelle II auf S. 274.)

Verwandtschaftsreaktion zeigten alle 14 Antihammelsera in wechselnder Stärke. H 29 gab außerdem noch mit Schwein 1:100 eine Reaktion, G 18 mit Mensch, Pferd, Schwein, Katze in der Verdünnung 1:100 eine deutliche, mit Schwein und Hund eine schwache Reaktion, H 75 reagierte mit Mensch 1:100 deutlich, mit Schwein 1:100 schwach. Die übrigen 10 Antisera wiesen keine spezifischen Trübungen auf. (Siehe Tabelle III auf S. 275.)

Tabelle IV.
Antiziegen serum.

| Lfd. No. | Kan. No. | Gewicht g | Behandlung | Spez. Titer | | | | Uebergreifen |
|----------|----------|--------------|--|-------------|--------|---------|---------|--|
| | | | | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | |
| 1 | T 12 | — | 17., 24., 31. I., 14., 23. II., 21., 30. III., 1. IV. 22 | + | + | + | + | Rind, Hammel 20 000 +, Schwein 10 000 +, Mensch, Pferd 1000 +, Katze 100 + |
| 2 | H 63 | 2700 | 5., 10., 14., 21. VII. 22 | + | + | + | + | Rind, Hammel 1000 + |

Beide Antiziegen sera zeigen Verwandtschaftsreaktionen, No. 1 außerdem mit Schweineantigen bis 1:10 000 positive Reaktion, ebenso mit Mensch und Pferd 1:1000 und Katze 1:100, während No. 2 spezifischer ist.

Tabelle V.
Antihirsch serum.

| Lfd. No. | Kan. No. | Gewicht g | Behandlung | Spez. Titer | | | | Uebergreifen |
|----------|----------|--------------|-----------------------|-------------|--------|---------|---------|--------------------------------------|
| | | | | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | |
| 1 | — | — | 11., 20., 29. XII. 20 | + | + | + | + | Reh, Rind, Ziege, Hammel 20 000 + |

Das Antihirschserum weist nur positive Präzipitinreaktion mit den Verwandtschaftsantigenen auf, ebenso die beiden folgenden Rehantisera.

Tabelle VI.
Antirehserum.

| Lfd. No. | Kan. No. | Gewicht g | Behandlung | Spez. Titer | | | | Uebergreifen |
|----------|----------|--------------|----------------------------|-------------|--------|---------|---------|---|
| | | | | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | |
| 1 | — | — | 26. IX., 15., 18. XI. 21 | + | + | + | + | Hirsch, Rind, Ziege, Hammel 20 000 + |
| 2 | H 68 | 2300 | 9., 14., 18., 25. VIII. 22 | + | + | + | + | dgl. |

Tabelle VII.
Antipferdesera.

| Lfd. No. | Kan. No. | Gewicht g | Behandlung | Spez. Titer | | | | Uebergreifen |
|----------|----------|--------------|-------------------------------|-------------|--------|---------|---------|---|
| | | | | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | |
| 1 | H 20 | — | 15., 18., 26. XI., 9. XII. 21 | + | + | + | + | Huhn 1000 +, Schwein, Katze, Ente 100 +, Rind, Hammel 100 ± |
| 2 | H 45 | 2500 | 31. III., 6., 12. IV. 22 | + | + | + | + | |
| 3 | H 70 | 2300 | 18., 23., 29. X. 22 | + | + | + | + | |
| 4 | I 1 | 2070 | 9. X., 28. XI., 5. XII. 22 | + | + | + | + | |

Antipferdesera No. 2, 3, 4 sind rein spezifisch, bei No. 1 dagegen tritt mit Huhn eine Präzipitation bis 1:1000, mit Schwein, Katze, Ente 1:100 deutliche, mit Rind und Hammel 1:100 schwache Reaktion ein.

Antischweinesera No. 3 und 4 sind rein spezifisch, No. 2 gibt mit Katzenantigen 1:100 einen deutlichen Ring, No. 1 zeigt mit Hammel- und Ziegensera bis 1:1000 Präzipitation und mit Pferd, Hund, Katze, Meerschweinchen, Huhn in der Verdünnung 1:100.

Tabelle VIII.
Antischweinesera.

| Lfd. No. | Kan. No. | Gewicht g | Behandlung | Spez. Titer | | | | Uebergreifen |
|----------|----------|--------------|---------------------------|-------------|--------|---------|---------|--|
| | | | | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | |
| 1 | 414 | — | 13., 17., 20., 27. II. 21 | + | + | + | + | Hammel, Ziege 1000 +, Mensch, Pferd, Hund, Katze, Meerschweinchen 100 + |
| 2 | H 15 | — | 13., 15., 19. X. 21 | + | + | + | + | Katze 100 + |
| 3 | H 41 | 2100 | 28. III., 5., 12. IV. 22 | + | + | + | + | |
| 4 | H 48 | 2150 | 12., 19., 26. IV. 22 | + | + | + | + | |

Tabelle IX.
Antihundesera.

| Lfd. No. | Kan. No. | Gewicht g | Behandlung | Spez. Titer | | | | Uebergreifen |
|----------|----------|--------------|---|-------------|--------|---------|---------|--------------------------------------|
| | | | | 1:100 | 1:1000 | 1:10000 | 1:20000 | |
| 1 | T 33 | 1740 | 24. III., 1., 9., 16. IV. 21 | + | + | + | + | Katze 20000 +, Meerschweinchen 100 + |
| 2 | H 26 | 2100 | 13., 18., 25. II. 22 | + | + | + | + | Katze 20000 + |
| 3 | U 1 | 2300 | 5., 9., 14. VIII. 22 | + | + | + | — | Katze 10000 + |
| 4 | U 2 | 2200 | 5., 9., 14., 23. VIII. 22 | + | + | + | + | Katze 20000 + |
| 5 | U 3 | 2300 | 5., 9., 14., 23. VIII. 22 | + | + | + | + | |
| 6 | H 58 | 2750 | 18., 23., 27., 31. V., 8., 19. VI. 22 | + | + | — | — | Katze 1000 + |
| 7 | H 59 | 2500 | 18., 23., 27., 31., V., 8., 19., VI. 22 | + | + | — | — | Katze 100 + |
| 8 | H 64 | 2450 | 10., 14., 18., 25., VII. 22 | + | + | + | + | Katze 20000 + |
| 9 | H 65 | 2400 | 10., 14., 18., 25., VII. 22 | + | + | + | + | |
| 10 | V 3 | 1450 | 6., 9., 12., 20. XI. 22 | + | + | + | — | Katze 1000 ±, Rind 100 + |
| 11 | V 4 | 1550 | 6., 9., 12., 20. XI. 22 | + | + | + | + | Katze 1000 ±, Rind 100 + |
| 12 | V 5 | 1440 | 6., 9., 12., 20. XI. 22 | + | + | + | ± | Katze 1000 ±, Rind 1000 + |

Rein spezifisch sind von den 12 Antihundeseren nur 2, No. 5 und 9. Alle übrigen zeigen heterogenetische Präzipitine mit Katzenantigen in verschiedener Stärke. Bei No. 1, 2, 3, 4 und 8 tritt die Reaktion mit Katze 1:20000 ebenso schnell und ebenso deutlich auf wie mit der gleichen Ver-

dünnung des Hundeserums, bei No. 3 ebenso bis 1:10 000, dort beträgt der spezifische Titer für Hund auch nur 10 000. No. 6 reagiert mit Katze bis 1:1000 deutlich, ebenso No. 7 mit Katze 1:100, No. 10 und No. 11 geben mit Katze 1:1000 eine schwache, mit Rind 1:100 eine deutliche Reaktion und No. 12 mit Katze und Rind 1:1000 eine schwache Reaktion. No. 1 gibt außerdem noch eine Reaktion mit Meerschweinchen-antigen 1:100.

Tabelle X.
Antikatzenserum.

| Lfd. No. | Kan. No. | Gewicht g | Behandlung | Spez. Titer | | | | Uebergreifen |
|----------|----------|--------------|-------------------------------|-------------|--------|----------|----------|---------------------------------|
| | | | | 1:100 | 1:1000 | 1:10 000 | 1:20 000 | |
| 1 | T 47 | 2550 | 26. I., 2., 11. II. 21 | + | + | — | — | Hund 1000 +, Mensch, Rind 100 + |
| 2 | H 27 | 2100 | 13., 18., 25. II., 6. III. 22 | + | + | + | + | |
| 3 | H 39 | 1500 | 24., 31. III., 8., 18. IV. 22 | + | + | + | + | Hund 20 000 + |

Antikatzenserum No. 2 ist spezifisch, No. 3 reagiert in derselben Stärke mit Hundeantigen, No. 1 ebenfalls und außerdem noch mit Mensch und Rind in der Verdünnung 1:100.

Tabelle XI.
Antihühner-sera.

| Lfd. No. | Kan. No. | Gewicht g | Behandlung | Spez. Titer | | | | Uebergreifen |
|----------|----------|--------------|-----------------------------|-------------|--------|----------|----------|--|
| | | | | 1:100 | 1:1000 | 1:10 000 | 1:20 000 | |
| 1 | H 4 | — | 6., 9., 12. V. 21 | + | + | — | — | Ente 1000 +, Taube 1000 ±, Rind 20 000 +, Ziege 10 000 +, Hammel 100 + |
| 2 | T 2 | — | — | + | + | — | — | Ente 1000 +, Taube 100 ±, Pferd 1000 ±, Hund, Katze 100 ± |
| 3 | 1913 | — | — | + | + | ± | — | Ente, Taube 1000 + |
| 4 | 1909 | — | — | + | + | + | + | Ente, Taube 1000 +, Pferd, Hund, Katze 100 + |
| 5 | 70 | 1640 | 24., 31. I., 7., 27. II. 21 | + | + | — | — | Ente, Taube 1000 + |
| 6 | H 49 | 2100 | 13., 21., 29. IV. 22 | + | + | + | + | Ente —, Taube — |
| 7 | H 50 | 2050 | 13., 21. IV. | + | + | + | + | Ente —, Taube 1000 + |

Verwandtschaftsreaktionen geben 6 Antisera, No. 6 konnte nicht mit Ente geprüft werden, da kein Entenserum mehr zur Verfügung stand, mit Taubenantigen trat keine Reaktion ein. Außerdem zeigten No. 2, 3, 4 mit Pferd, Hund, Katze in der Verdünnung 1:100 eine Reaktion, No. 2 mit Pferd 1:1000 noch eine schwache Reaktion. No. 1 dagegen wies mit dem spezifischen Antigen Huhn einen Titer von 1:1000 auf, mit dem unspezifischen Rinderantigen sogar einen Titer von 1:20 000, mit Ziege von 1:10 000 und mit Hammel von 1:100.

Tabelle XII.
Antientensera.

| Lfd. No. | Kan. No. | Gewicht g | Behandlung | Spez. Titer | | | | Uebergreifen |
|----------|----------|-----------|----------------------|-------------|--------|----------|----------|---|
| | | | | 1:100 | 1:1000 | 1:10 000 | 1:20 000 | |
| 1 | 495 | 2000 | 17., 20., 28. XI. 19 | + | + | — | — | Ente, Taube, Ziege 1000 +, Rind, Hammel, Pferd, Hund, Katze 100 + |
| 2 | | | | + | + | — | — | Ente 1000 +, Taube 100 + |

Entenserum No. 2 gibt nur die Verwandtschaftsreaktionen, No. 1 zeigt außerdem mit Ziege in der Verdünnung 1:1000 und mit Rind, Hammel, Pferd, Hund, Katze 1:100 eine positive Reaktion.

Ein Antigänseserum No. 24 zeigte nur die Verwandtschaftsreaktionen mit Ente, Huhn, Taube bis zur Verdünnung 1:1000, unspezifische Reaktionen wies es nicht auf.

Bei der Zusammenfassung meiner Prüfungsergebnisse zeigt sich, daß von 78 untersuchten Seris 43 = 55,8 Proz. absolut spezifisch waren, d. h. sie gaben nur mit dem homologen Antigen eine positive Präzipitationsreaktion. (Hierbei sind natürlich Verwandtschaftsreaktionen in der Geflügelgruppe und in der Rind-, Ziege-, Hammel-, Reh- und Hirschgruppe nicht zu den unspezifischen Reaktionen gerechnet.) Die übrigen 35 Antisera = 44,2 Proz. zeigten unspezifische Reaktionen, davon 9 = 11,7 Proz. bis zur Verdünnung 1:20 000, 12 = 15,6 Proz. nur in der Verdünnung 1:100, die übrigen 14 = 16,9 Proz. in der Verdünnung 1:1000 oder 1:10 000.

In den Fällen, wo es sich um unspezifische Reaktionen nur in den stärkeren Konzentrationen handelte, trat die Reaktion meist etwas langsamer und bedeutend schwächer in die Erscheinung, als bei der spezifischen Reaktion; aber bei den Antiseris, die gleich weit auf das homologe wie auf das heterologe Antigen reagierten, kamen die Präzipitate in beiden Fällen gleich schnell und gleich stark, so daß man nicht in der Lage war, makroskopisch nach der Ringprobe die unspezifische Reaktion von der spezifischen zu unterscheiden.

Einen Ueberblick über sämtliche von mir untersuchte Sera gibt die nachstehende Tabelle XIII.

Tabelle XIII.

| Antiserum gegen | An- zahl | Absolut spezifisch | Unspezifisch | | | Unspezifisch im ganzen |
|--------------------|-------------|-----------------------|---------------------|-------------------------|------------|---------------------------|
| | | | Antigenverdünnungen | | | |
| | | | 1 : 100 | 1 : 1000— 1 : 10 000 | 1 : 20 000 | |
| Mensch | 14 | 11 | 1 | 1 | 1 | 3 |
| Rind | 12 | 5 | 3 | 2 | 2 | 7 |
| Hammel | 14 | 10 | 4 | — | — | 4 |
| Ziege | 2 | 1 | — | 1 | — | 1 |
| Hirsch | 1 | 1 | — | — | — | — |
| Reh | 2 | 2 | — | — | — | — |
| Pferd | 4 | 3 | — | 1 | — | 1 |
| Schwein | 4 | 2 | 1 | 1 | — | 2 |
| Hund | 12 | 2 | 1 | 5 | 4 | 10 |
| Katze | 3 | 1 | — | 1 | 1 | 2 |
| Huhn | 7 | 3 | 2 | 1 | 1 | 4 |
| Ente | 2 | 1 | — | 1 | — | 1 |
| Gans | 1 | 1 | — | — | — | — |
| Summa | 78 | 43 | 12 | 14 | 9 | 35 |
| Prozentzahl | | 55,8 % | 15,6 % | 16,9 % | 11,7 % | 44,2 % |

Wie aus den vorstehenden Untersuchungen hervorgeht, zeigen fast alle Arten von monogenen Antiseris ab und zu (polyerge) unspezifische Präzipitinreaktionen, und zwar findet dies Uebergreifen anscheinend wahllos auf irgendeine Tierart statt. So greift z. B. ein Hühnerantiserum, das mit dem homologen Antigen einen Titer von 1 : 1000 hat, bis zur Verdünnung 1 : 20 000 auf Rind über, ein Rinderantiserum ebenso stark auf Mensch, ein Menschenantiserum auf Hammel usw. Auffällig ist das häufige Uebergreifen von Hund auf Katze und umgekehrt.

Von den verschiedenen Faktoren, die man für das Zustandekommen der unspezifischen Präzipitine verantwortlich gemacht hat, scheint keiner ganz stichhaltig zu sein. Zur Antiserumgewinnung wurden bei uns nur kräftige Tiere verwandt, die Ernährung der Tiere war durchweg gut. Als Antigen hatten wir stets frisches Serum zur Verfügung, wenigstens zur Behandlung der Tiere, zum Prüfen mußten natürlich einzelne schwer erhältliche Sera aufgehoben werden, meist wurde aber auch dazu frisches Antigen verwandt.

Wie schon Friedberger und Jarre sowie Manteufel und Beger konnte ich auch ein gehäuftes Auftreten von übergreifenden Seris im Winter und Vorfrühling konstatieren.

Von 77 Tieren wurden 43 in der Zeit vom 1. November bis zum 31. März behandelt, davon waren nur 18 = 41,9 Proz. absolut spezifisch, die übrigen 25 = 58,1 Proz. unspezifisch. 34 in der Zeit vom 1. April bis zum 31. Oktober ergaben 24mal = 70,6 Proz. ein absolut spezifisches präzipitierendes Serum, nur 10mal = 29,4 Proz. ein übergreifendes (siehe Tabelle XIV).

Tabelle XIV.

| Zeit der Behandlung | 1. November—31. März | 1. April—31. Oktober |
|------------------------------|----------------------|----------------------|
| Gesamtzahl der behand. Tiere | 43 | 34 |
| spezifisch | 18 = 41,9 % | 24 = 70,6 % |
| unspezifisch | 25 = 58,1 „ | 10 = 29,4 „ |

Ein Einfluß des Geschlechts auf die Antikörperbildung ließ sich bei unseren Tieren nicht feststellen, wie die nachstehende Tabelle XV zeigt.

Tabelle XV.

| Geschlecht | ♂ | ♀ |
|----------------------------------|-------------|-------------|
| Gesamtzahl der behandelten Tiere | 28 | 31 |
| spezifisch | 17 = 60,7 % | 20 = 64,5 % |
| unspezifisch | 11 = 39,3 „ | 11 = 35,5 „ |

Von 59 Tieren, bei denen Geschlechtsangabe in den Protokollen vorlag, waren 28 Tiere ♂ und 34 Tiere ♀. Bei beiden ist die Verteilung der spezifischen und unspezifischen präzipitierenden Antikörper ungefähr die gleiche. Von 28 männlichen Tieren lieferten 17 = 60,7 Proz. spezifisches Antiserum und

11 = 39,3 Proz. unspezifisches. Die 31 weiblichen Tiere ergaben 20mal = 64,5 Proz. nur homologen Titer und 11mal = 35,5 Proz. übergreifende Präzipitine.

Dem Körpergewicht kommt aber eine größere Bedeutung zu, wenngleich sich da schwer eine Grenze zwischen kleinen und großen Tieren ziehen läßt. Ich habe als Grenzwert 2000 g angenommen. Die Ergebnisse zeigt Tabelle XVI.

Tabelle XVI.

| Gewicht | Unter 2000 g | Ueber 2000 g |
|----------------------------------|--------------|--------------|
| Gesamtzahl der behandelten Tiere | 13 | 49 |
| spezifisch | 6 = 44,6 % | 31 = 63,3 % |
| unspezifisch | 7 = 53,8 „ | 18 = 36,7 „ |

Von 49 Tieren über 2000 g ergaben 31 = 63,3 Proz. nur spezifische Präzipitine und 18 = 36,7 Proz. auch unspezifische. 13 Tiere unter 2000 g zeigten 6mal = 44,6 Proz. spezifisches Antiserum und 7mal = 53,8 Proz. übergreifendes. Es bilden also, wenn man aus der geringen Menge der Tiere unter 2000 g überhaupt Schlüsse ziehen kann, die kleinen (jungen) Kaninchen leichter übergreifende Präzipitine. Dadurch wäre auch wohl am einfachsten das gehäufte Vorkommen solcher Sera in der Kriegs- und Nachkriegszeit zu erklären, denn bei dem ungeheuren Mangel an Kaninchen kommen in den meisten Instituten fast gar nicht mehr ausgewachsene Tiere zur Behandlung.

Die Anzahl der Injektionen scheint bei Prüfung der Endergebnisse keine besondere Rolle zu spielen. Von 29 3mal gespritzten Tieren lieferten 16 ein spezifisches Serum, 13 ein unspezifisches; bei 31 4mal injizierten Tieren war das Verhältnis ungefähr das gleiche: 18 spezifische und 13 übergreifende Sera. Die 13 öfter als 4mal vorbehandelten Tiere ergaben 7mal ein spezifisches und nur 6mal ein übergreifendes Serum. (S. Tabelle XVII.)

Tabelle XVII.

| Injektionszahl | 2mal | 3mal | 4mal | 5mal u. öfter |
|----------------|------|------|------|---------------|
| Zahl der Tiere | 1 | 29 | 31 | 13 |
| spezifisch | 1 | 16 | 18 | 7 |
| unspezifisch | . | 13 | 13 | 6 |

Etwas verschiebt sich das Bild, wenn man auch im Verlaufe der Immunisierung Titerprüfungen anstellt. Was das zeitliche Auftreten der Präzipitine, sowohl der spezifischen als auch der unspezifischen, anbetrifft, so zeigte sich dabei ein ganz verschiedenes Verhalten. Nach einmaliger Injektion war meist gar kein Titer, oder doch nur ein ganz schwacher Titer für das homologe Antigen vorhanden. Nach 2maliger Behandlung stieg der Titer für das spezifische Antigen an; gleichzeitig traten häufig in starken Konzentrationen heterogenetische Präzipitine auf. Und nach der dritten Injektion stieg auch der Titer für das unspezifische Antigen schnell in die Höhe. Als Beispiel mögen Antirinderserum H 33 und H 43 dienen. (S. Tabelle XVIII und XIX.)

Tabelle XVIII.

Kan. H 33. 1. III., 6. III., 15. III. je 1 ccm Rinderserum iv.

| | Rind | Ziege | Hammel | Schwein | Mensch |
|----------|------|-------|--------|---------|--------|
| 6. III. | | | | | |
| 1:100 | ± | — | — | — | — |
| 1:1000 | — | — | — | — | — |
| 1:10 000 | — | — | — | — | — |
| 1:20 000 | — | — | — | — | — |
| 13. III. | | | | | |
| 1:100 | + | + | + | ± | + |
| 1:1000 | + | + | + | — | — |
| 1:10 000 | + | — | — | — | — |
| 1:20 000 | + | — | — | — | — |
| 23. III. | | | | | |
| 1:100 | + | + | + | — | + |
| 1:1000 | + | ± | ± | — | + |
| 1:10 000 | + | — | — | — | + |
| 1:20 000 | + | — | — | — | + |

Beide Antirindersera zeigen nach der zweiten Injektion einen verhältnismäßig starken Titer für das homologe Antigen und gleichzeitig übergreifende Präzipitine in der Verdünnung 1:100; nach nochmaliger Behandlung steigt der Titer für irgendein beliebiges der übergreifenden Antigene plötzlich stark mit an, während er für ein anderes ganz verschwindet, oder, wie bei H 43 für Schweineantigen, etwa in derselben Stärke erhalten bleibt.

Tabelle XIX.

Kan. H 43. 30. III., 6. IV., 12. IV., 19. IV., 26. IV. je 1 ccm Rinderserum iv.

| | Rind | Ziege | Hammel | Pferd | Schwein | Mensch |
|----------|------|-------|--------|-------|---------|--------|
| 12. IV. | | | | | | |
| 1:100 | + | — | ± | — | — | — |
| 1:1000 | — | — | — | — | — | — |
| 1:10 000 | — | — | — | — | — | — |
| 1:20 000 | — | — | — | — | — | — |
| 19. IV. | | | | | | |
| 1:100 | + | + | + | + | ± | ± |
| 1:1000 | + | + | + | — | — | — |
| 1:10 000 | ± | — | — | — | — | — |
| 1:20 000 | — | — | — | — | — | — |
| 26. IV. | | | | | | |
| 1:100 | + | + | + | — | — | — |
| 1:1000 | + | + | — | — | — | — |
| 1:10 000 | — | — | — | — | — | — |
| 1:20 000 | — | — | — | — | — | — |
| 3. V. | | | | | | |
| 1:100 | + | + | + | + | + | — |
| 1:1000 | + | + | + | + | — | — |
| 1:10 000 | + | — | + | + | — | — |
| 1:20 000 | + | — | — | + | — | — |

Oder die unspezifischen Präzipitine treten erst nach einer späteren Injektion sofort in ihrer ganzen Stärke auf. (S. Antimenschenserum H 56, Tabelle XX.)

Tabelle XX.

Kan. H 56, 2400 g, ♂. 28. IV., 3. V., 8. V. je 1 ccm Menschenserum iv.

| Antigen | Mensch | Rind | Ziege | Hammel |
|----------|--------|------|-------|--------|
| 8. V. | | | | |
| 1:100 | + | — | — | — |
| 1:1000 | — | — | — | — |
| 1:10 000 | — | — | — | — |
| 1:20:000 | — | — | — | — |
| 16. V. | | | | |
| 1:100 | + | + | + | + |
| 1:1000 | + | + | + | + |
| 1:10 000 | + | — | — | + |
| 1:20 000 | + | — | — | + |

Bei Antihammelserum H 30 verschwinden die nach der zweiten Injektion vorhandenen unspezifischen Präzipitine nach der dritten Injektion wieder vollständig, das Serum gibt nur noch die Verwandtschaftsreaktionen. (S. Tabelle XXI.)

Tabelle XXI.

Kan. H 30. 18. II., 1. III., 8. III. je 1 ccm Hammelserum i. v.

| | Hammel | Rind | Ziege | Mensch |
|----------|--------|------|-------|--------|
| 6. III. | | | | |
| 1:100 | + | + | + | + |
| 1:1000 | + | + | + | — |
| 1:10 000 | + | — | — | — |
| 1:20 000 | + | — | — | — |
| 15. III. | | | | |
| 1:100 | + | + | + | — |
| 1:1000 | + | + | + | — |
| 1:10 000 | + | + | + | — |
| 1:20 000 | ± | + | — | — |

Aus den letzten Untersuchungen geht hervor, daß heterogenetische Präzipitine anscheinend regellos einmal schwächer, einmal stärker gebildet werden, und daß auch in der Bildung begriffene unspezifische, präzipitierende Antikörper wieder zurückgehen können. Sonst läßt sich nur so viel sagen, daß doch wohl ein Zusammenhang zwischen Injektionszahl und Uebergreifen besteht, nur treten die übergreifenden Präzipitine oft schon zu einer Zeit in den stärkeren Konzentrationen auf, zu der das Antiserum noch nicht den gewünschten homologen Titer hat, also für Identifizierung von Eiweiß in der Praxis noch nicht brauchbar ist.

Zusammenfassung.

Bei 78 monogenen präzipitierenden Antiseris, die durch Vorbehandlung mit den in Tabelle XIII (S. 281) aufgeführten Eiweißarten gewonnen waren, wurde der Titer gegenüber 12 verschiedenen Antigenen (s. S. 273) geprüft.

Die Zahl der absolut spezifischen bzw. der nur auf die nächstverwandten Eiweißarten übergreifenden betrug 55,8 Proz., die Zahl der polyergen heterogenetisch übergreifenden 44,2 Proz. Davon reagierten 11,7 Proz. mit heterogenetischem Antigen etwa gleichstark wie mit dem Antigen der Vorbehandlung.

Bei dem Auftreten der heterogenetischen Sera spielt die Ernährung der Tiere keine Rolle, ebensowenig das Geschlecht.

Einen gewissen Einfluß scheint die Jahreszeit zu haben. Im Winter (November mit März) ist die Zahl der unspezifischen Sera eine höhere als im Sommer (April mit Oktober).

Aeltere (große) Tiere bilden seltener übergreifende Sera als junge (kleine).

Weitere Untersuchungen beziehen sich auf das zeitliche Auftreten der heterogenetischen Präzipitine. Sie können schon sehr frühzeitig auftreten, aber auch im Verlauf der weiteren Behandlung wieder verschwinden. Ihren Höhepunkt erreichen sie aber erst nach mehrmaliger Vorbehandlung.

Nachdruck verboten.

[Aus der Vet.-bakt. Untersuchungsstelle bei der Prosektur
in Troppau.]

**Bemerkungen zu der Veröffentlichung von A. Wolff-Eisner
über experimentelle Beiträge zur Frage der Tuberkulin-
immunität, speziell auch zu der der antigenen Wirkung
des Tuberkulins in Bd. 35, Heft 3 dieser Zeitschrift.**

Von Staatsveterinär Dr. E. Januschke, Troppau.

(Eingegangen bei der Redaktion am 13. Januar 1923.)

Entgegen den bisher in der Tiermedizin gemachten Beobachtungen über das Schwächerwerden oder Ausbleiben der positiven Reaktion nach wiederholter Tuberkulininjektion bei der Rindertuberkulose und in Uebereinstimmung mit dem von A. Wolff-Eisner erwähnten, an Zahl der Fälle weit überwiegenden Reaktionstypus beim Menschen, der ursprünglich negativ ist und erst bei wiederholter Tuberkulininjektion positiv wird, habe ich auch bei Rindern mit der ins Gewebe des Augenlids erfolgenden „intrapalpebralen“ Tuberkulininjektion die Erfahrung gemacht, daß die Tiere nach einer ursprünglich zweifelhaften Probe auf eine am anderen Augenlid wiederholte Injektion deutlich positiv reagieren. Hierbei wurde weiter die in Uebereinstimmung mit ähnlichen Wahrnehmungen

in der Humanmedizin von Ševčík bzw. Mitáček bei der subkutanen Malleinisierung rotzkranker Pferde gemachte Beobachtung, daß auf wiederholte Injektionen gewöhnlich ein Vortreten der lokalen und ein Zurücktreten der thermischen und allgemeinen Reaktion zustandekommt, auch für die wiederholte Injektion von Tuberkulin an tuberkulösen Rindern von mir bestätigt (Monatsh. f. pr. Tierheilk., 1922, H. 7/9). Klimmer (Klimmer und Wolff-Eisner, Handb. der Serumdiagnostik in der Veterinärmedizin) sagt, daß die Wiederholung der subkutanen Tuberkulininjektion wegen schnellerer Ausbildung des Rezeptorenapparates im Bindegewebe meist nicht zu einer Fieberreaktion führt, wenn die erste versagt hat. Die neue Methode der intrapalpebralen Injektion gestattet nun, das Auftreten starker lokaler Schwellungen auf eine wiederholte Injektion zu beobachten, obwohl ich auch das Auftreten einer nach der ersten Injektion ausgebliebenen starken Temperatursteigerung wahrgenommen habe. Der Grund, warum dieser erst nach wiederholter Injektion auftretende Reaktionstypus bisher in der Tiermedizin unbeachtet blieb, dürfte zunächst darin zu suchen sein, daß die nicht reagierenden Tiere innerhalb eines kürzeren Zeitraumes wohl nur sehr selten eine neuerliche Tuberkulininjektion erhielten und das allenfalls dann beobachtete Auftreten einer positiven Reaktion auf eine inzwischen erfolgte Infektion zurückgeführt wurde, vor allem aber darin, daß durch systematisch wiederholte Tuberkulininjektionen nur Tiere geprüft wurden, die von vornherein stark positiv reagierten und endlich darin, daß die bei der wiederholten Injektion typisch verstärkten Lokalreaktionen bei der subkutanen Tuberkulinprobe nicht zur Wahrnehmung gelangen. Bei systematisch wiederholter Prüfung aller nicht oder nur schwach innerhalb der unter den Autoren strittigen zweifelhaften Temperaturerhöhung reagierenden Tiere wäre gewiß auch der beim Menschen bekannte Reaktionstypus schon früher beobachtet worden; die Anwendung der Lidinjektion gibt künftig hierfür bessere Aussichten. Da es sich hierbei um inaktive oder „abgeheilte“ Tuberkulosen handelt, die augenblicklich weder für den infizierten Organismus noch hinsichtlich der Infektionsübertragung gefährlich sind, ist auf diese Tatsache, die wissen-

schaftlich allerdings viel Interesse verdient, praktisch kein wesentliches Gewicht zu legen.

Es sei gestattet, noch auf einen zweiten Punkt der Veröffentlichung Wolff-Eisners Bezug zu nehmen. Der Autor sagt nach Aufzählung der von Much angenommenen Zusammensetzung des Tuberkulins aus drei Partialantigenen, einem besonderen Gift und einem Riechstoff, daß nach Much auch der Riechstoff „beim (tuberkulösen?) Menschen hoch reaktiv“ sei, daß er aber mit Ruppel darin übereinstimme, daß diese bei der Tuberkulinherstellung beobachteten Reaktionen nicht durch den Riechstoff bedingt werden, sondern „durch die beim Kochen bei der Fabrikation des Alttuberkulins infolge Verdampfung hochgerissene Tuberkulintröpfchen, wie auch das Kochsalz an der See durch Brandung in die Luft gerissen wird“. Hierzu ist zu sagen, daß ich selbst und einige andere Personen, die eine spezifische Infektion vermutlich einmal mitgemacht hatten, bei der Tuberkulinreinigung über dem Wasserbade, wobei also von Kochen des Tuberkulins nicht die Rede sein kann, fieberhafte und shockartige Reaktionen bekamen, die nach der ganzen Sachlage nur auf flüchtige Substanzen, nicht aber auf mechanisch in die Luft gerissene Tuberkulintröpfchen zurückgeführt werden können. Die Zerstäubung des Meerwassers durch die Brandung kann nur dem Spray, höchstens dem Kochen über offener Flamme gleichgesetzt werden. Das Abdampfen über dem Wasserbade entspricht der einfachen Verdampfung heißer, nicht kochender Flüssigkeit, und die Erklärung Wolff-Eisners und Ruppels hinsichtlich der bei der Eindampfung des Tuberkulins auftretenden Tuberkulinreaktionen ist ebenso irrtümlich, wie die gelegentlich zu beobachtende ärztliche oder tierärztliche Ordination, bei Katarrhen den Dampf heißer Kochsalzlösung einzuatmen, während derselbe Arzt oder Tierarzt den quantitativen Kochsalznachweis in Flüssigkeiten durch Eindampfen, ohne Zweifel zu haben, richtig erbringt.

Es hat sich ferner in auf meine Veranlassung in den Höchster Farbwerken angestellten Versuchen gezeigt, daß tuberkulöse Meerschweinchen auf Injektion der in Flüssigkeit absorbierten flüchtigen, im Vakuum gewonnenen Abdampf-

stoffe typisch reagieren. Ueber die Fortsetzung dieser Experimente in eigenen Untersuchungen wird seinerzeit berichtet werden. Es kann aber jetzt schon als erwiesen gelten, daß das Tuberkulin flüchtige typisch reaktive Stoffe besitzt, die im tuberkulösen Organismus bei subkutaner oder bei Einverleibung mit der Atemluft eine allgemeine Tuberkulinreaktion auslösen.

Frau Dr. Sofie A. Nordhoff-Jung, Washington, hat unter der Bezeichnung „Dr. Sofie A. Nordhoff-Jung Cancer-Research-Prize“ den Betrag von 500 Dollars jährlich gestiftet. Der Preis ist zur Förderung der Krebsforschung bestimmt. Er wird durch eine Kommission von Mitgliedern der Münchener Medizinischen Fakultät verteilt und soll zum ersten Male Ende 1923 verliehen werden. Der Kommission gehören die Herren Borst, Döderlein, Sauerbruch und als Vorsitzender Herr von Romberg an. Der Preis soll eine Anerkennung für die hervorragendste Arbeit der Weltliteratur auf dem Gebiete der Krebsforschung sein, die in der der Preisverteilung vorhergehenden Zeit erschienen ist. Eine Bewerbung um den Preis ist ausgeschlossen. Die Kommission bittet aber einschlägige Arbeiten ihr zuzusenden.

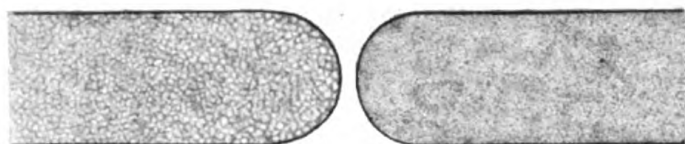


Fig. 1.

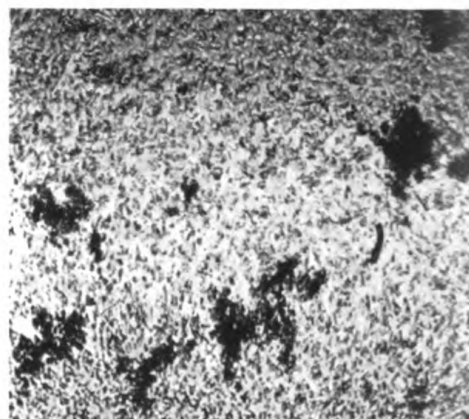


Fig. 4.

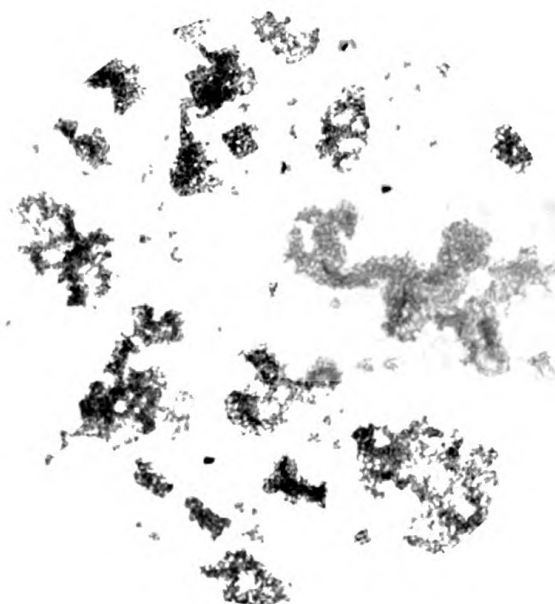


Fig. 2.



Fig. 5.

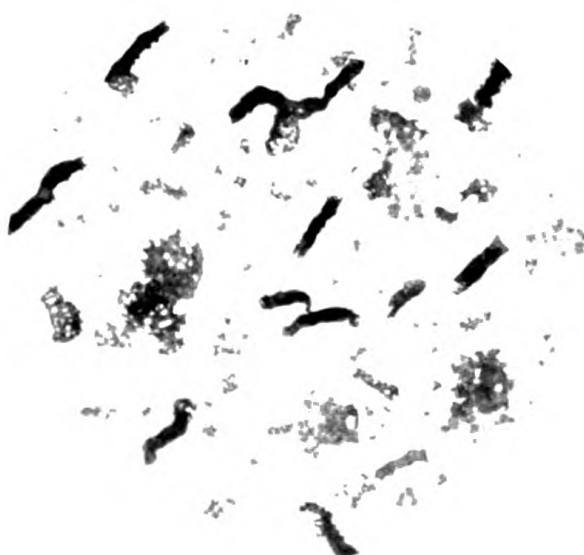


Fig. 3.

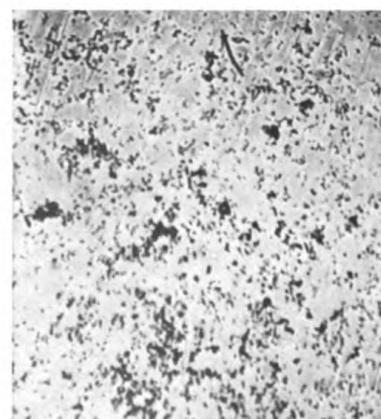


Fig. 6.

Verlag von Gustav

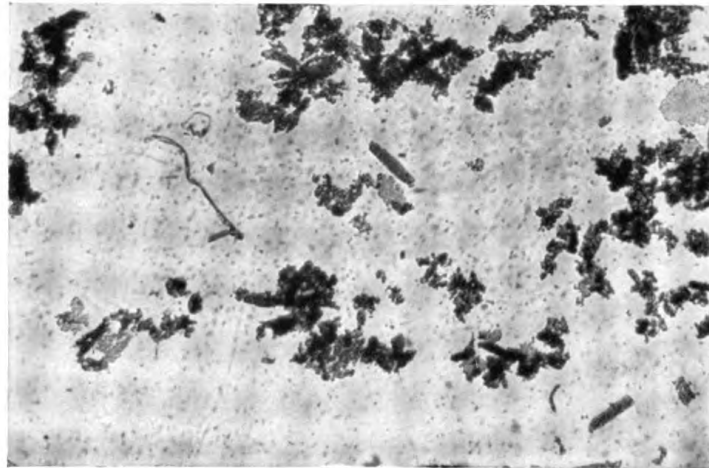


Fig. 7.

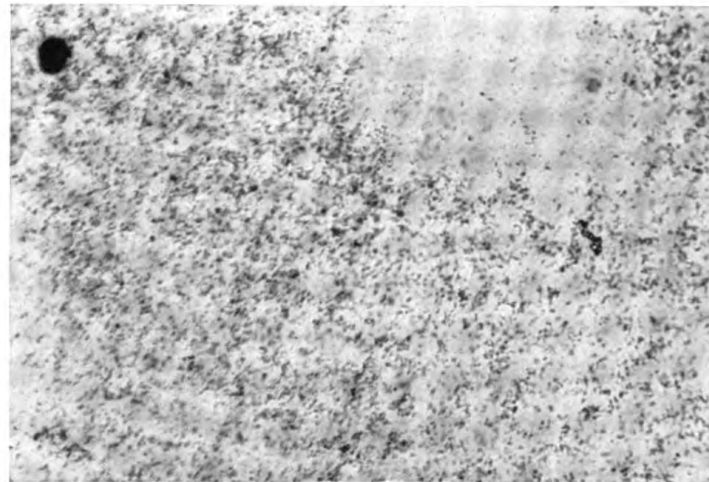


Fig. 8.

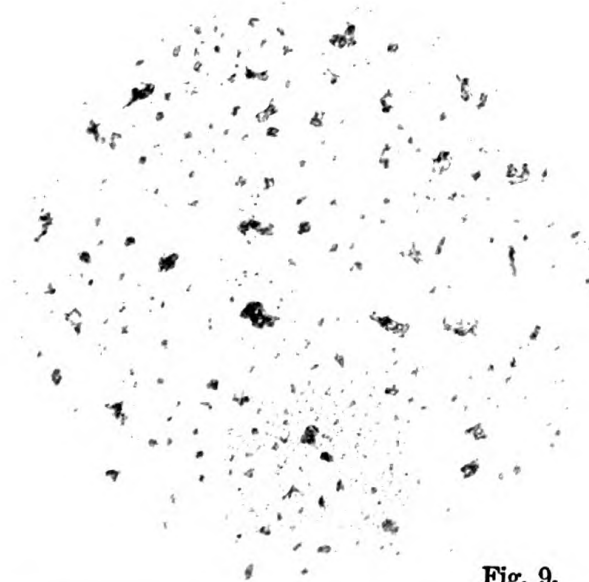


Fig. 9.

Fischer in Jena.

Nachdruck verboten.

Anaphylaxiestudien über Proteinkörper der Milch.

Von Dr. F. Eisenberger, München.

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. Juli 1922.)

Die Anaphylaxiegefahr bei Proteinkörpertherapie fand in der Literatur der letzten Jahre eine eifrige und weitgehende Erörterung, und rollte die noch ungelöste Frage des anaphylaktischen Phänomens, die vor und während des Krieges eine so lebhaft diskutierte hervorgerufen hatte, von einem praktischen Gesichtspunkt aus auf.

Ich stellte mir daher die Aufgabe, zu untersuchen, ob es nicht durch physikalische Eingriffe gelänge, die anaphylaktogene „Komponente“ des Eiweißes auszuschalten. Einige Literaturangaben früherer Forschungsergebnisse schienen mir dabei die Richtung zu weisen. Ich möchte vorausschicken, daß es nicht gelungen ist, die anaphylaktogenen Eigenschaften in befriedigender Weise auszuschließen; die Ergebnisse meiner Versuche aber dürften doch als Ergänzung und Nachprüfung früherer Forschungsergebnisse um so mehr Interesse auch für die Immunitätsforschung haben, als sie sich auf zahlreiche Tierversuche stützen, die heutzutage eine leider sehr kostspielige Forschungsmethode geworden sind.

Das Ausgangsmaterial der derzeitigen zur Proteinkörpertherapie verwendeten Eiweißkörper ist die Milch, und vor allem einer ihrer Eiweißkörper, das Kasein. Die Milch stellt bis auf die großen Unbekannten — die Proteine — ein chemisch wohldurchforschtes natürliches Eiweiß- und Salzgemisch dar. Wenn auch das Rätsel dieser wichtigsten Bausteine aller belebten Substanz noch nicht gelöst ist, so haben uns doch die Methoden der Immunitätsforschung, der physikalischen Chemie und der Kolloidforschung einen gewissen Einblick in die Eigenschaften und den Aufbau des Eiweißmoleküls gewährt.

Die eigentümliche Eigenschaft der Eiweiße, seien sie tierischer oder pflanzlicher Herkunft, bei wiederholter parenteraler Zufuhr ein deletäres Krankheitsbild beim Versuchstier — dem Meerschweinchen — hervorzu-

rufen, hat die Forschung zu stets neuen staunenswerten Ergebnissen geführt, ohne aber die Frage nach dem Grunde des anaphylaktischen Shocks eindeutig zur Klärung zu bringen. Es würde über den Rahmen dieser Abhandlung hinausführen, wollte ich auf die hochinteressanten Ergebnisse und Probleme eingehen, die sich aus verschiedenartigsten Versuchsbedingungen ergeben haben, zumal sich meine Forschung lediglich auf die Wirkung der Milcheiweiße erstrecken konnte.

Nachdem die Anaphylaxieforschung einmal systematisch und exakt in Angriff genommen war, zog die Fragestellung über die anaphylaktogenen Eigenschaften der Eiweiße bald weitere Kreise und erstreckte sich über die Prüfung der verschiedensten artfremden Blutsera hinaus auf andere Eiweißkörper. So zog vor allem die Milch als eine Mischung natürlich gelöster Eiweißkörper das Interesse der Forschung auf sich, und hier haben vor allem Besredkas grundlegende Versuche zu exakten Ergebnissen geführt. An seiner Forschungsmethode gab nur der Umstand Anlaß zur Kritik, daß er — ausgehend von seiner Theorie, daß der anaphylaktische Antikörper an der Nervenzelle verankert sei — als Reinjektionsmodus die intrazerebrale Injektion wählte, die der Injektionsdosis eine Grenze bei 0,25 ccm zieht, über die nicht hinausgegangen werden kann. Heute haben sich die meisten Forscher auf die intravenöse Reinjektionsmethode geeinigt, die entschieden die drastischste Methode darstellt, um das anaphylaktische Phänomen zu erzeugen. Da es sich bei der Anaphylaxieforschung um Einhaltung ganz bestimmter Kautelen handelt, so sollten stets nur die gleichen Versuchsbedingungen gewählt und genaueste Angaben über Art und Durchführung des Versuches bzw. der von der Norm abweichenden Modifikation gemacht werden, denn nur so lassen sich vergleichende Daten finden, und nur dann ist eine Nachprüfung möglich.

Die Angaben Besredkas über die anaphylaktogenen Eigenschaften der Milch gehen dahin, daß ein intraperitoneal mit 1 ccm einer 20 Minuten gekochten Milch sensibilisiertes Meerschweinchen (von 300—400 g Gewicht) nach 16—20 Tagen bei intrazerebraler Reinjektion auf $\frac{1}{4}$ ccm Milch mit einem anaphylaktischen Shock reagiert, der immer tödlich endet. Oft genüge $\frac{1}{10}$ ccm selbst einer 20 Minuten auf 120° (im Autoklaven) erhitzten Milch, um die gleiche Wirkung hervorzurufen. $\frac{1}{4}$ ccm einer $\frac{1}{4}$ Stunde auf 130° erhitzten Milch rufe nur mehr leichte Störungen hervor. Weiter sagt Besredka, daß eine 15 Minuten auf 130° erhitzte Milch nicht mehr sensibilisiere und auch bei intrazerebraler Injektion nicht mehr toxisch wirke.

Soweit die Angaben Besredkas. — Einige andere Forscher isolierten das Kasein aus der Milch und stellten damit das anaphylaktische Experiment an. Meine Versuche erstreckten sich gleichfalls auf die isolierten Eiweißkörper der Milch, und zwar zunächst auf die Wirkungsweise des Kaseins bei verschiedenen physikalischen Eingriffen. Als Ausgangs-

punkt diente mir ein durch dreimaliges Umfällen mit Essigsäure aus zentrifugierter Kuhmilch gewonnenes Kasein, das durch wiederholte Alkohol- und Aetherbehandlung total entfettet wurde. Kasein löst sich gemäß seines Säurecharakters in wässrigen basischen Verbindungen unter Abspaltung von OH-Ionen. Zur Lösung der Trockensubstanz wurde sehr verdünnte wässrige Ammoniaklösung in einer Konzentration gewählt, die dem Säuregehalt des Kaseins entspricht, so daß das Produkt gegen Azolithmin neutral reagierte. Mittels Ultrafiltration durch Membranfilter wurde einerseits die Lösung geklärt, andererseits keimfrei gemacht und bis zur Verwendung in Ampullen eingeschmolzen. Zur Sicherheit erfolgte noch eine einmalige $\frac{1}{2}$ -stündige Erhitzung auf 56° , um allenfallsige Verunreinigung durch Luftkeime beim Abfüllen auszuschalten. Mit dem so gewonnenen Präparat wurde die erste Versuchsreihe angestellt, wobei von vornherein mit Sensibilisierung und späterem Shock zu rechnen war.

Ich sensibilisierte bei meinen Versuchen stets intraperitoneal (ip.) mehrere Tiere mit je 1 ccm und mindestens eines mit mehrmaligen Injektionen, da nach Otto und anderen weitere Gaben die Sensibilisierung erhöhen. Besonders wirksam ist die Methode von Briot und Aynaud, die mit mehrfachen kleinen Dosen mit 3–6tägigen Intervallen sensibilisiert und schwächste Antigene nachweisen läßt. Reinjiziert wurde stets nur intravenös nach einem Intervall von mindestens 14 Tagen¹⁾.

Der Kaseingehalt der Milch schwankt nach Angaben von Hammarsten zwischen 4,2 und 5,8 Proz. Ich suchte nach Möglichkeit bei den Kaseinlösungen diese Grenzen einzuhalten. Die Protokolle enthalten stets genaue Angaben über den jeweiligen Gehalt an Kasein, wie er durch die Trockensubstanzbestimmung ermittelt wurde.

1) Die etwas hohen Reinjektionsdosen bei einzelnen Versuchen erklären sich daraus, daß zunächst als „Standarddosis“, die nicht mehr töten sollte, 1 ccm angenommen wurde, die Gildemeister und Seiffert für Anaphylaxieversuche bei Kaseosan (Kasein-Natriumlösung) festgestellt haben, wobei jedoch nicht der Reinjektionsmodus angegeben war. Es zeigte sich, daß bei intravenöser Reinjektion 0,2 ccm Kaseosan bereits einen typischen tödlichen Shock innerhalb weniger Minuten hervorrufen. Gildemeister und Seiffert dürften also zweifellos intraperitoneal oder subkutan geprüft haben, da meine Tiere (3) sämtlich auf intravenöse Reinjektion mit typhischem Shock und Exitus reagierten.

20*

Tabelle I.
Unerhitzte Kaseinammoniumlösung.

| No. | Ge- wicht g | Dosis in ccm ip. | Substanz | Temp. | | Inter- vall Tage | Re- injekt.- Dosis iv. ccm | Substanz | Temp. | | Ge- wicht g | | | |
|-----|-------------------|------------------------------|--|----------|----------------------|------------------------|--|---------------------|--|----------|-------------------|------|-----|--|
| | | | | vor | nach | | | | vor | nach | | | | |
| 2 | 700 | 1,8 | Kas.- Ammoniumlösung unerhitztes Ammoniumlösung | 4,5 % | 37,0 | 38,5 | 27 | 1,0 | Kas.- Ammon. unerhitztes Ammon. | 4,5 % | — | — | — | Schw. anaph. Shock; Erholung n. 1/2 Std. Typ. Shock u. Tod in 2 Minuten Dgl. Typ. Anzeichen eines leichten Shocks, wie Putzen, Krächzen, Haarsträuben. |
| a12 | 220 | 1,0 | | 6% | 36,2 | 35,4 | 17 | 0,13 | | 6% | 38,0 | 37,2 | 305 | |
| a 4 | 210 | 1,0 | | 6% | 36,4 | 35,6 | 17 | 0,02 ^{a)} | | 6% | 37,0 | 36,2 | 315 | |
| a 3 | 210 | 1×0,9 ¹⁾ 2×1,0 | | 6% | 35,6 36,2 36,5 | 35,0 37,7 36,5 | 19 ²⁾ | 0,005 ³⁾ | | 6% | 37,3 | 33,5 | 315 | |

1) Mit eintägigen Pausen. — 2) Gerechnet von der 1. Injektion. — 3) Die Zahlen drücken das Verhältnis der Verdünnung zur ursprünglichen Lösung in ccm aus; die Injektionsmenge betrug dem Volumen nach 0,1–0,2 ccm; 0,02 ccm enthält demnach 0,0012 g Kasein.

Vorstehende Versuchsreihe zeigt, daß bei Sensibilisierung mit 1 ccm einer 6-proz. Kasein-Ammoniumlösung (= 0,06 g Trockensubstanz) noch 0,02 ccm der gleichen Lösung (= 0,0012 g Trockensubstanz) genügen, um ein 300 g schweres Meerschweinchen in 2 Minuten zu töten. Ja selbst 0,005 ccm lösen bei hochgradig sensibilisiertem Tier noch deutlichen Shock aus. Etwas paradox hierzu liegt der Fall No. 2, bei dem größere Dosen zur Anwendung kamen. Es handelt sich hierbei jedoch um ein mehr als doppelt so schweres Tier, was am besten die Abhängigkeit des Versuchsergebnisses sowohl vom Körpergewicht als auch von der unterschiedlichen Disposition des Einzelindividuums beweist, wie spätere Angaben noch erhärten werden. Zur Sensibilisierung war hier 1,8 ccm einer 4,5-proz. Lösung (= 0,081 g Trockensubstanz) verwendet worden. Das Intervall bis zur Reinjektion betrug in Anbetracht der etwas höheren Dosis ca. $\frac{1}{3}$ mehr als bei den übrigen Tieren. Zur Reinjektion wurde 1 ccm der gleichen Lösung (= 0,045 g Trockensubstanz) verwendet, also ca. das Vierzigfache mehr als die tödliche Dosis bei Tier a 4.

Nach diesen Ergebnissen taucht die Frage auf, ob ein thermischer Eingriff, sowohl in die Trockensubstanz als auch in die Lösung selbst, eine abschwächende Wirkung auf das

„Sensibilisinogen“ der Lösung hervorrufen könne. Diese Fragestellung führte zur Herstellung der zweiten Lösung, die in der Weise hergestellt wurde, daß ein $\frac{1}{2}$ Stunde bei 115° getrocknetes Kasein¹⁾ in gleicher Weise in Lösung gebracht und nach analoger Behandlung an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 80° gehalten wurde. Dieses Präparat lieferte folgende Versuchsergebnisse:

Tabelle II.
Erhitzte Kaseinammoniumlösung (Lösung II).

| No. | Gewicht g | Dosis in ccm ip. | Substanz | Temp. | | Inter- vall Tage | Re- inj. iv. ccm | Substanz | Temp. | | Gewicht g | |
|-----|--------------|------------------------|---|-------|-----------|------------------------|---------------------------|---|-------|-----------|--------------|--|
| | | | | vor | nach | | | | vor | nach | | |
| 1 | 330 | 1,0 | erhitzte Kasein-Ammoniumlösung (Lösung II) | 3,5% | 37,1 36,5 | 21 | 0,6 | erhitzte Kasein-Ammoniumlösung (Lösung II) | 4% | 38,0 36,2 | 390 | Urin- und Kotabgang, Putzen, sonst keine Zeichen |
| a48 | 245 | 1,0 | | 5,2% | 36,4 36,2 | 19 | 1,0 | | 5,2% | 38,6 36,5 | 320 | Typ. Shock und Tod in 2 Minuten |
| a43 | 250 | 1,0 | | 5,4% | 35,8 36,0 | 19 | 0,5 | | 5,2% | 37,2 36,4 | 310 | Dgl. |
| 6 | 275 | 1,0 | | 4% | 38,0 36,5 | 23 ¹⁾ | 1,0 | | 4,5% | 36,8 — | 340 | Typ. Shock und Tod in wenigen Minuten |
| | | 0,5 | | | 37,3 38,3 | | | | | | | |
| | | 0,2 | | | 36,7 37,3 | | | | | | | |
| 4 | 290 | 3×1,0 | | 4% | 37,0 36,2 | 21 ¹⁾ | 0,5 | | 4,6% | 36,3 — | 345 | Dgl. |
| | | | | | 37,0 37,2 | | | | | | | |
| | | | | | 36,4 37,0 | | | | | | | |
| a27 | 320 | 3×1,0 | | 5,2% | 36,2 37,2 | 25 ¹⁾ | 0,02 ²⁾ | | 5,2% | 36,5 35,0 | 375 | Unruhe, Putzen, Kau- bewegungen, Kräch- zen, Neigung, sich zu legen |
| | | | | | 35,6 35,8 | | | | | | | |
| | | | | | 36,5 36,4 | | | | | | | |

1) Gerechnet vom 1. Injektionstag. — 2) 0,02 ccm Lösung in 0,1 ccm Volumen.

Aus diesem Protokoll geht mit Deutlichkeit hervor, daß weder die Erhitzung der Trockensubstanz noch die der Lösung die Sensibilisierung der Tiere verhindert, wenn sich auch immerhin eine gewisse Abschwächung zu erkennen gibt, wie besonders der Vergleich der Sensibilisierungs- und Reinjektionsdosis von a4 (I) und a27 (II) zum Ausdruck bringt.

Da die physikalischen Eingriffe zur Verhinderung einer Sensibilisierung bei Lösung II sich als ungenügend erwiesen,

1) Der Erhitzung der Trockensubstanz ist eine Grenze gezogen, da über 115° eine Spaltung des Kaseins in Isokasein und einen unlöslichen, in Alkali nur noch quellenden Körper eintritt (Hammarsten). Wir konnten diese Beobachtung bestätigen.

wurde die Erhitzungsdauer verlängert, indem Lösung II in Ampullen 2 Stunden in siedendem Wasserbad gehalten wurde. Dies so modifizierte Präparat wurde an der dritten Versuchsreihe geprüft.

Tabelle III.
2 Stunden bei 98° erhitzte Lösung II.

| No. | Gewicht g | Dosis in ccm ip. | Substanz | Temp. | Inter- vall | Re- inj. in ccm iv. | Substanz | Temp. | | Gewicht g | |
|-----|--------------|------------------------|--|--|------------------------------------|---------------------------------|--|-------|------|--------------|--|
| | | | | | | | | vor | nach | | |
| a86 | 300 | 3 × 0,2 2 × 0,1 | 2 Std. bei 98° erh. Kas.-Am. 5,5% | teils Temp.- Erhöhung, teils Abfall post inj. | 14 Tg. n. d. letzten Inj. | 0,5 0,2 | 2 Std. bei 98° erh. Kas.-Am. 5,5% | 37,1 | 34,3 | 300 | Typ. Shock u. Tod in 3 Min. Dgl. |
| a64 | 290 | 3 × 0,2 2 × 0,1 | | | | | | 37,2 | 36,3 | 425 | |

Die beiden hochgradig sensibilisierten Tiere reagierten mit einem so drastischen Shock, daß von weiteren Versuchen mit dem gleichen Präparat Abstand genommen wurde.

Zur Steigerung der Hitzegrade kam nunmehr die Erhitzung im Autoklaven zur Anwendung. So wurde Lösung II einem Dampfdruck von mehreren Kilogramm $\frac{1}{4}$ Stunde lang ausgesetzt, wobei die Temperatur von 130° konstant blieb. Die so behandelte Lösung zeigte etwas bräunliche Verfärbung, wie die gleiche Erscheinung von höher erhitzter Milch bekannt ist. Im übrigen blieb die Lösung nach dem Erkalten klar. Da nach Besredkas Angaben eine $\frac{1}{4}$ Stunde auf 130° erhitzte Milch nicht mehr sensibilisierte, so durfte das gleiche von einer ebenso behandelten Kasein-Ammoniumlösung erwartet werden. Es zeigte sich jedoch, daß dieser Rückschluß falsch war, wie nachstehende Tabelle IV auf S. 297 beweist.

Obwohl bei Reinjektion nach dem ersten positiven Fall sogar eine $\frac{3}{4}$ Stunden auf 130° gehaltene Lösung verwendet wurde, zeigte sich selbst bei einer Dosis von 0,5 ccm noch ein drastischer tödlicher Shock in wenigen Minuten. Die hochsensibilisierten Tiere (a77, a74) reagierten sogar noch auf kleinere Dosen deutlich positiv, somit unterschied sich Präparat IV in seiner Wirkung so gut wie nicht von Präparat II.

Tabelle IV.
Auf 130° erhitzte Lösung II.

| No. | Gewicht g | Dosis in ccm ip. | Sub- stanz | Temp. | | Inter- vall | Dosis in ccm iv. | Substanz | Temp. | | Gewicht g | |
|-----|--------------|------------------------|---|---|----------------------|------------------|------------------------|--|-------|------|--------------|---|
| | | | | vor | nach | | | | vor | nach | | |
| 439 | 350 | 1,0 | 1/4 Std. auf 130° erhitztes Kaseinammonium 5,5 % | 36 | 36,4 | 23 Tg. | 1,4 | dgl. 5,5 % | 35,3 | — | 385 | Tödlicher Shock in wenigen Min. |
| 438 | 360 | 1,0 3 × 1) | | 37,1 36,2 35,5 | 37,2 37,3 35,8 | 23 Tg. | 0,5 | 3/4 Std. auf 130° erh. 5,1 % Kas.- Ammon. | 36,0 | — | 425 | Tödlicher Shock in wenigen Min. |
| 440 | 400 | 1,0 2 × 0,2 2) | | 37,2 | 37,1 | 30 Tage 3) | 0,15 | | 36,0 | 35,1 | 470 | Leichte Anzeich. eines Shocks; überlebt |
| a77 | 270 | 3 × 0,1 2 × 0,2 2) | | Meist Temp.- Rückg. bis zu 1° post inj. | | 4 Wo- chen 3) | 0,2 | | 36,8 | 35,0 | 320 | Dgl. |
| a74 | 245 | 3 × 0,1 | | | | | 0,05 | dgl. 5,4 % | — | 33,5 | 270 | „ |

1) An 3 aufeinander folgenden Tagen. — 2) Mit 4—5täg. Pausen. —

3) Gerechnet vom 1. Injektionstag ab.

Ein weiterer Versuch suchte durch Steigerung der Hitze-
grade die sensibilisierende Wirkung abzuschwächen. Zu
diesem Zwecke wurde Präparat II 25 Minuten bei einer
Temperatur von 135 bis 145° gehalten. Die nachstehenden
Versuche zeigen die Erfolglosigkeit dieser Maßnahme:

Tabelle V.
25 Minuten auf 135—145° erhitzte Lösung II.

| No. | Ge- wicht g | Dosis in cem ip. | Substanz | Temp. | | Inter- vall | Dosis in cem iv. | Substanz | Temp. | | Ge- wicht g | | | |
|-----|-------------------|------------------------------|---|------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------|--------------------|---|------|-------------------|------|-----|--|
| | | | | vor | nach | | | | vor | nach | | | | |
| 494 | 320 | 1,1 | 25 Min. auf 135—145° erhitze Kas.-Ammoniumlösung | 5,5% | 35,2 | 36,2 | 21 Tg. | 0,5 | 25 Min. auf 135—145° erhitze Kas.-Ammoniumlösung | 5,2% | 36,2 | 33,0 | 310 | Typischer Shock von mäßiḡ. Heftigkeit; überlebt |
| 470 | 270 | 1,1 | | 5,5% | 35,2 | 35,0 | 21 „ | 0,1 | | 5,2% | 37,0 | — | 290 | Tödlicher Shock in 2 Minuten |
| 410 | 285 | 1,0 | | 5,5% | 35,7 | 35,3 | 4 W. | 0,05 | | 4,8% | 35,7 | 34,0 | 266 | Andeutungen eines Shocks; überlebt |
| 468 | 410 | 3×1,0 ¹⁾ | | 4,8 bis 5,8 % | 37,0 37,2 37,4 | 36,2 36,7 36,9 | 21 Tage ²⁾ | 0,02 ³⁾ | | 4,8% | 37,0 | 34,7 | 395 | Typ. Schock von ge- ringer. Heftigkeit; überlebt |
| 493 | 455 | 1×0,2 ⁴⁾ 4×0,1 | | | — | — | 4 W. ²⁾ | 0,01 ³⁾ | | 4,8% | 35,4 | 32,5 | 486 | Heftiger Shock nach 3 Min.; Tod nach ½ Std. |

1) Mit 1—3tägigen Pausen. — 2) Gerechnet von der 1. Injektion an. —

3) In 0,2 ccm Gesamtvolumen; Verdünnung der ursprünglichen Lösung,
daß 0,02 ccm (!) in 0,2 ccm enthalten sind. — 4) In 3—4tägigen Intervallen.

Wieder zeigt sich die paradoxe Erscheinung, die schon bei Reihe I zur Beobachtung kam. Während nämlich Tier 494 den Shock glatt übersteht, zeigt 470, das eine nur den 5. Teil betragende Reinjektionsdosis erhalten hatte, einen blitzartigen Shock; auch die übrigen Tiere lassen die unabgeschwächte Wirksamkeit der so ausgiebig erhitzten Kaseinlösung erkennen. Diese oben erwähnte Beobachtung zeigt wieder und noch viel deutlicher den individuellen Unterschied in der Reaktionsbereitschaft.

Ganz analog gestalten sich die Versuchsergebnisse der folgenden Reihe, bei der ein Präparat verwendet wurde, das die auf 165° erhitzte Lösung II darstellt. Nach Erreichung dieser Temperatur (gemessen durch Thermometer) wurde die Wärmezufuhr unterbrochen und der Autoklav bis zur Erreichung des Normaldruckes (ca. 1/2 Stunde) geschlossen gehalten. Es zeigte sich, daß bei manchen Lösungen (verschiedener Konzentration) eine irreversible Trübung bzw. eine gelatinöse Ausfällung des Kaseinsalzes stattgefunden hatte. Es handelte sich also um eine irreversible Kolloidfällung. Ampullen, die diese Erscheinung zeigten, wurden vom Versuch ausgeschaltet, und nur solche Lösungen verwendet, die absolut klar erschienen.

Tabelle VI.

Auf 165° erhitzte Lösung II.

| No. | Gewicht g | Dosis in ccm ip. | Substanz | Temp. | | Inter- vall | Dosis in ccm iv. | Substanz | Temp. | | Gewicht g | |
|-----|--------------|-------------------------------------|---|--------------------|---|----------------|-----------------------------|-------------------------------|-------|------|--------------|---|
| | | | | vor | nach | | | | vor | nach | | |
| 467 | 375 | 1,0 | auf 165° erhitzte Kasein- Ammoniumlösung | 6,1% | 35,0 | 36,1 | 19 Tg. | 0,6 dgl. 5,8% | 35,5 | 33,5 | 370 | Tödlicher Shock inner- halb weniger Min. |
| 450 | 300 | 1,0 | | 6,1% | 36,0 | 37,1 | 19 „ | 0,3 dgl. 5% | 36,4 | 34,6 | 295 | Dgl. |
| 486 | 290 | 1,0 | | 6,1% | 37,2 | 34,2 | 19 „ | 0,5 dgl. 5,6% | 37,2 | 34,2 | 310 | Schwerer Shock; über- lebt |
| 469 | 430 | 3 × 1,0 ¹⁾ | | 5,2 bis 6,1% | 36,7 — 37,5 | 36,1 37,0 | 23 „ ²⁾ | 0,05 ³⁾ dgl. 4,8% | 36,5 | 32,2 | 430 | Tödlicher Shock inner- halb 5 Min. |
| 480 | 455 | 1 × 0,2 ⁴⁾ 4 × 0,1 | | 4,0 bis 7,2% | Anfänglich Temperatur- steigerung, spät. Senkg. post inj. | 38,1 37,0 | 4 Wo- chen ⁵⁾ | 0,005 ⁵⁾ dgl. 4,8% | 36,7 | 33,7 | 500 | Ausgeprägter Shock v. geringer Heftigkeit; überlebt |

1) Mit 1—3tägigen Pausen. — 2) Gerechnet vom 1. Injektionstag an. —
3) 0,05 ccm (!) der Lösung in 0,5 ccm Gesamtvolumen. — 4) In 3—4tägigen
Intervallen. — 5) In 0,1 ccm Gesamtvolumen.

Auch zu diesen Ergebnissen ist wenig hinzuzufügen, der Versuch zeigt deutlich, daß weitgehendste thermische Eingriffe den Charakter der Eiweißlösung als starkes Anaphylaktogen nicht zu ändern vermögen. Selbst so geringe Dosen, wie 0,005 ccm einer 4,8-proz. Lösung (= 0,24 mg Trockensubstanz!) zeigen am hochsensibilisierten Tier den deutlich ausgeprägten Shock. Interessant dürfte hierzu die Feststellung sein, daß die Dialyse¹⁾ einer derartig hochehitzten Kasein-Ammoniumlösung noch keine mit Ninhydrin reagierenden Spaltprodukte nachweisen läßt, auch nicht im eingeeengten Dialysat, was den Schluß erlaubt, daß das Kaseinmolekül in einer Ammoniumlösung durch Erhitzung auf 165° noch nicht so weit alteriert wird, daß Spaltstücke auftreten.

Da bei höheren Temperaturen Fällungserscheinungen eintreten, so konnten Versuche in obiger Richtung nicht fortgesetzt werden. Es wurde daher zur Prüfung der anderen Eiweißkomponente der Milch — des Molkeneiweißes — geschritten, dem Besredka eine schützende Wirkung gegenüber mit Milch sensibilisierten Tieren zuschreibt und das sich ihm auch an sich als atoxisch erwies. Besredka verwendete sowohl die durch natürliche Gerinnung der Milch gewonnene Molke als auch eine durch bulgarisches Laktoferment vom Kasein befreite Molke. Es blieb für die „immunisatorische“ (sic!) Wirkung der Molke gleichgültig, ob sie nativ oder auf 100° erhitzt zur Anwendung kam. Sie wurde lediglich mit Sodalösung neutralisiert. Auch der sich bei Neutralisation bildende Niederschlag war atoxisch, weshalb Besredka in ihm die „immunisatorische Substanz“ sieht. Die schützende Dosis gegenüber mit Milch sensibilisierten Tieren betrug bei intraperitonealer Einverleibung 7 ccm am Vortage der Reinjektion.

Das Molkeneiweiß besteht nach unseren heutigen Kenntnissen aus zwei trennbaren Eiweißkörpern, dem Albumin und Globulin, zwei Protalbumosen, die sich durch verschiedene chemische Methoden stets differenzieren lassen. Bei meinen

1) Die Dialyse wurde selbstverständlich in persönlich geeichten Schläuchen (von Schleicher und Schüll) vorgenommen, die nach unserer Prüfung für Kasein-Ammoniumlösung undurchlässig, gleichmäßig durchlässig dagegen für eine 1/2- und 1-proz. Seidenpeptonlösung waren.

Versuchen wurde auf diese Trennung verzichtet und in folgender Weise verfahren:

Aus dreifach verdünnter Milch wurde durch Einleiten von Kohlensäure das Kasein mittels verdünnter Essigsäure gefällt, abfiltriert und die nahezu klare Molke durch Ultrafiltration durch Membranfilter von den kolloiden Bestandteilen gereinigt, so daß sie als wasserklare Flüssigkeit imponierte. Nun wurde bis zur schwachsauren Reaktion neutralisiert und bis zur Siedetemperatur erhitzt, wodurch nahezu quantitativ das Molken-eiweiß als flockiger Niederschlag ausfiel. Dieser Niederschlag wurde gemäß dem Verfahren von Besredka in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

Mit dem so gewonnenen Präparat sollte die schützende Wirkung gegenüber Meerschweinchen, die mit Lösung II hochgradig sensibilisiert waren, geprüft werden.

Das führt uns zur Betrachtung der

Tabelle VII.
Prophylaktische Molken-eiweißinjektion.

| No. | Gewicht g | Dosis in ccm ip. | Sub- stanz | Temp. | Inter- vall | Molken- eiweiß ip. | Reinj.- Dosis iv. | Substanz | Temp. | | Gewicht g | |
|-----|--------------|--------------------------------|----------------------------------|---|---|--------------------------|-------------------------|----------|-------|------|--------------|--|
| | | | | | | | | | vor | nach | | |
| a 9 | 360 | 2×(0,2 ¹) 3×0,1 | 6,3% erhitzt. Kas.- Ammon. | Durchschn. Temperatur- rückgang post inj. 2/10 — 5/10 | 13 Tg. nach d. letzten Injekt. | 9 ccm | 0,15 | 5,5% | 36,9 | 35,0 | 450 | Schwer. Shock, doch bleiben die Tiere am Leben |
| a94 | 350 | 3×(0,2 ¹) 2×0,1 | | | | 5 „ | 0,2 | 4,5% | 36,6 | 36,2 | 450 | |

1) Mit 4tägigen Pausen zwischen jeder Injektion.

Beiden Tieren wurde also nach Ablauf der Latenzzeit (13 Tage nach der letzten Injektion) eine Aufschwemmung obiger Herstellungsart in Dosen von 5 und 9 ccm intraperitoneal injiziert, wobei der Molken-eiweißgehalt der Aufschwemmung ca. das Doppelte betrug von dem natürlichen Gehalt der Molke. Die Prüfung am folgenden Tag ließ jedoch in beiden Fällen einen schweren Shock nicht vermissen, wenn auch die Tiere nicht ad exitum kamen und wenn auch eine verhältnismäßig hohe Prüfungsdosis angewandt wurde. Wegen der individuellen Komponente und der geringen Anzahl der Versuche läßt sich natürlich kein bindender Schluß ziehen; der zweimalige positive Ausfall des Experiments ermutigte aber nicht zu weiteren Versuchen in dieser Richtung.

Nun wurde daran gegangen, die Molke selbst auf ihre anaphylaktogene Komponente zu prüfen. Sie enthält, wie wir

oben gehört haben, die immunisatorische Substanz, ohne toxisch zu sein (Besredka). Ich stellte mir die Molke in der Weise dar, daß ich unverdünnte Milch nach dem oben beschriebenen Verfahren von Kasein befreite, hernach ultrafiltrierte, so daß eine klare Lösung erhalten wurde. Die Bestimmung des Eiweißgehaltes und die Ultrafiltration rechtfertigen die Annahme, daß nur mehr Albumin und Globulin vorhanden waren. Ein exaktes Kriterium für die „Reinheit“ genannter Eiweißsubstanzen, wie wir sie in der Chemie sonst zu haben gewöhnt sind, gibt es bisher nicht.

Die Molke wurde bis zur schwachsauren¹⁾ Reaktion neutralisiert und bis zum Verbrauch in Ampullen eingeschmolzen. Dieselben wurden $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitzt. Sensibilisiert wurde in gleicher Weise wie mit den Kaseinlösungen. Intervall und Reinjektionsdosis fanden analoge Berücksichtigung. Nachfolgende Versuchsreihe zeigt den Ausfall des Experiments.

Tabelle VIII.
Schwach saure Molke.

| No. | Gewicht g | Dosis in ccm ip. | Sub- stanz | Temp. | | Inter- vall Tage | Reinj.- Dosis iv. | Substanz | Temp. | | Gewicht g | |
|-----|--------------|------------------------|--|--|------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------|------|--------------|--|
| | | | | vor | nach | | | | vor | nach | | |
| a47 | 330 | 1,0 | Milchultrafiltrat nach Ausfällung des Kaseins mit 0,44% Eiweißgehalt | 36,5 | 37,0 | 21 | 1,0 | Milchultrafiltrat | 37,4 | — | 385 | Tödlicher anaphylakt. Shock in 2 Min. |
| a42 | 310 | 1,0 | | 36,2 | 37,0 | 21 | 0,1 | Dgl. | 36,5 | 33,0 | 350 | Putzen, heftigste Krämpfe, Tod in 4 Min. |
| a74 | 360 | 3×1,0 | | durchschn. Temperatur-Erhöhung post inj von $\frac{5}{10}^0$ | | 14 | 0,01 ¹⁾ | Dgl. | 37,0 | 32,1 | 400 | Haarsträuben, Kaubewegungen, Frösteln, Rückwärtskriechen; bleibt am Leben |
| a 8 | 400 | 3×0,2 | | | | 14 | 1,2 | Dgl. | 35,9 | 33,0 | 370 | Tödlicher Shock in 2 Min. |
| a40 | 380 | 2×0,1 | | | | 14 | 1,2 | erhitztes Kasein-Ammon. | 35,1 | 34,1 | 340 | Zuerst lebhaftes Herumkriechen, nach 3 Min. heftiger Shock m. Luftschnappen; erholt sich nach 10 Min. und bleibt am Leben. |

1) In 0,1 ccm Volumen appliziert.

Es ergab sich die überraschende Tatsache, daß Milchalbumin und -globulin ebenso starke anaphylaktogene Eigen-

1) Schwach sauer mußte die Molke deshalb bleiben, weil bei absoluter Neutralisation das Molkeneiweiß bei Erhitzung auf 56° auszufallen beginnt.

schaften zeigten wie Kaseinlösungen. Ja man könnte ihnen sogar in Anbetracht der prozentualen Unterschiede des Eiweißgehaltes stärkere anaphylaktogene Eigenschaften zuschreiben. Zum Protokoll sei erwähnt, daß die beiden ersten orientierenden Versuche durch No. a 8 und a 40 dargestellt werden, deshalb ist auch die Reinjektionsdosis (nach der Voraussetzung, daß Molke für sich atoxisch sei) eine viel zu hohe. Der Erfolg war bei dem hochsensibilisierten Tier a 8 ein äußerst heftiger tödlicher Shock innerhalb 2 Minuten. Dies war zunächst doch so erstaunlich, daß man sich die Frage vorlegen mußte, ob es nicht eine Kaseinwirkung war, die den Shock auslöste. Deshalb wurde Tier a 40 mit einer massiven Dosis der Lösung II reinjiziert. Der Ausfall dieses Experiments war gleichfalls überraschend, als nach 3 Minuten ein heftiger Shock eintrat, dem allerdings innerhalb 10 Minuten eine Erholung folgte, so daß das Tier keinen weiteren Schaden davon nahm. Daß in der Molke noch Kaseinanteile vorhanden gewesen wären, die gewissermaßen eine Sensibilisierung gegenüber Kasein erzeugt hätten, dürfte aus folgenden Gründen unwahrscheinlich sein: 1) enthielt die Molke 0,44 Proz. Trockensubstanz, was dem Eiweißgehalt der Molke an Albumin und Globulin entspricht; 2) könnte es sich nur um Spuren¹⁾ von Kasein gehandelt haben, die wohl kaum noch in der Lage gewesen wären, zu sensibilisieren; 3) sind gelegentliche Verwandtschaftsreaktionen zwischen Kasein und Laktalbumin auch noch aus anderen analogen Vorgängen bekannt, z. B. bei den komplementbindenden Antikörpern (Kudicke und Sachs, Pfandler). — Solange wir die Eiweißkörper nicht exakt zu unterscheiden vermögen, läßt sich diese Frage jedoch nur hypothetisch behandeln.

Die Versuche mit a 47, a 42 und a 74, die nach den obigen Ergebnissen angestellt wurden, erweisen aber mit Sicherheit,

1) Als ein brauchbares Reagens für den Nachweis noch ziemlich kleiner Mengen Kasein erwies sich uns ein bei H. Schmitt (Die Technik immunbiol. Untersuchungsverfahren) zur Bestimmung der antitryptischen Kraft des Blutes nach der Methode von Bergmann und Meyer beschriebenes Reagens, das aus 5 ccm Essigsäure, 45 ccm 96-proz. Alkohol und 50 ccm Aqua dest. besteht. Es ließen sich damit durch die Ringprobe in 1 ccm bis zu 0,6 mg Kasein nachweisen.

daß auch dem Molkeneiweiß ein ausgesprochen anaphylaktogener Charakter zukommt, da selbst auf 0,01 ccm einer 0,44-proz. Molkeneiweißlösung (= 0,044 mg! Trockensubstanz) das Anzeichen eines Shocks auftritt. Dieses Ergebnis ist gewissermaßen eine selbstverständliche Bestätigung der bekannten Tatsachen, daß Molkeneiweiß komplementbindende und präzipitierende Antikörper erzeugt. Letztere halten Doerr und Friedemann geradezu für identisch mit den anaphylaktischen Antikörpern.

Von rein theoretischem Interesse war die Frage, ob sich die durch Kaseinammonium erzeugte Anaphylaxie passiv übertragen lasse. Das führte zu folgenden Versuchsergebnissen:

Tabelle IX.
Passive Anaphylaxie.

| No. | Gewicht g | Dosis in ccm ip. | Substanz in ccm | Temp. | | Inter- vall | Reinj.- Dosis in ccm | Substanz in ccm | Temp. | | |
|-----|--------------|------------------------|---|-------|------|-----------------|----------------------------|--------------------|-------|------|--|
| | | | | vor | nach | | | | vor | nach | |
| a1 | 260 | 1,0 | 12 Tage altes Kan.-Ser. akt. ¹⁾ | 35,5 | 35,0 | 20 ^h | 1,1 | 4 ‰ | 35,6 | 31,8 | Andeutung von Krämpfen, ge- sträubtes Fell |
| 452 | 440 | 1,0 | 5 Tage altes Meersch.- Serum ²⁾ | 35,0 | 36,8 | 24 ^h | 1,0 | 4,5 ‰ | 37,5 | 35,8 | Keine anaphyl. Zeichen |
| a13 | 390 | 0,6 | 3 Tage altes Serum von No. 90 ³⁾ | 37,0 | 36,7 | 72 ^h | 1,0 | 4,5 ‰ | 35,3 | 36,5 | Kein Shock |
| a14 | 315 | 0,8 | 1 Tag altes Serum a 94 ⁴⁾ | 37,5 | 37,0 | 72 ^h | 1,2 | 5,5 ‰ | 37,7 | — | Typ. Shock und Tod in wenigen Minuten |

1) Kaninchenserum von Kaninchen 474, das nach mehrfacher Vorbehandlung mit erhitztem Kaseinammonium einen Komplementtiter von 1:2000 bei einer Serumverdünnung 1:5 gegenüber dem Antigen aufwies. — 2) Meerschweinchenserum eines Tieres, das mit mehrfachen höheren Dosen (2—5 ccm) von erhitztem Kaseinammonium ip. vorbehandelt war. — 3) No. 90 war ein Tier, das $3 \times 0,2$ und $2 \times 0,1$ in mehrtägigen Intervallen erhalten hatte und bei der Prüfung mit tödlichem anaphylaktischen Shock reagierte. — 4) Siehe Tabelle VII.

Es ist bekannt, daß passive Uebertragung der Anaphylaxie nicht mit der Regelmäßigkeit gelingt, wie das aktive Experiment; am ehesten zeigt sie sich bei Verwendung homologer Sera. Trotz des hohen Komplementbindungstiters hat das Kaninchenantiserum nur einen leichten Shock verursacht.

Zur Sensibilisierung sämtlicher Spendertiere wurde Lösung II verwendet. Daß a 13, das Serum von einem hochsensibilisierten Tier erhalten hatte, völlig negativ reagierte, mag an der zu geringen primären Dosis gelegen haben. Typisch reagierte nur a 14. Ob das Alter des anaphylaktischen Antiserums, etwa durch Komplementschwund auf das Gelingen des Experimentes Einfluß hat, war mir leider nicht möglich zu untersuchen.

Mehr Anspruch auf praktische Bedeutung hatten die Untersuchungen nachstehender Art, bei denen die Kaseinlösungen mittels heterologer Stoffe geprüft wurden. Gildemeister und Seiffert haben sich schon bei der Prüfung des Kaseosans die gleiche Frage vorgelegt und Kaseosan gegenüber Milch, Rinder-, Pferde-, Eselsera geprüft. Ich stellte mir die Aufgabe, therapeutisch in Verwendung kommende Eiweißstoffe, wie Diphtherierinder- und -Pferdeserum und Milch gegenüber Kaseinammoniumlösung zu prüfen. Es wurde teils mit den Stoffen sensibilisiert, teils in Umkehrung des Experiments, reinjiziert. Die Versuchsergebnisse sind in nachstehender Tabelle X auf S. 305 zusammengefaßt.

Die sämtlichen Versuche zeigen ein entweder völlig negatives Resultat oder doch nur die Andeutung eines anaphylaktischen Shocks, wie Putzbewegungen, Haarsträuben und Temperatursenkungen. Im übrigen verhielten die Tiere sich durchweg normal, krochen lebhaft herum und machten Fluchtversuche, was man bei schweren anaphylaktischen Insulten nie beobachten kann. Daß sich unter den zahlreichen Versuchen auch nicht ein schwerer Shock findet, trotz intravenöser Anwendung der Dosen, die anderweitig schwersten Insult und Tod hervorriefen, bestätigt nicht nur die gleichfalls negativen Versuche von Gildemeister und Seiffert, sondern ebenso die weitgehendste Konstitutionsspezifität des Kaseins (im Versuch a 89, a 88, a 36, a 61). Im gleichen Sinne sprechen auch die Ergebnisse von Uhlenhuth und Haendel, die bei mit gekochter Milch (45 Minuten) sensibilisierten Meerschweinchen keine Anaphylaxie gegenüber Rinderserum bekamen, wohl aber bei Sensibilisierung mit frischer Milch. Das durch Essigsäure gefällte und in Ammoniak gelöste Kaseinmolekül scheint einen „Antikörper“ zu erzeugen, der

Tabelle X.
Heterologe Eiweißarten.

| No. | Gewicht g | Dosis in ccm ip. | Substanz | Temp. | | Inter- vall Tage | Reinj. in ccm iv. | Substanz | Temp. | | Gewicht g | |
|-----|--------------|------------------------|--|-------|------|------------------------|-------------------------|--|-------|------|--------------|--|
| | | | | vor | nach | | | | vor | nach | | |
| a89 | 205 | 0,75 | 5 % erh. Kas.-Amm.- Lsg. (Lsg. II) | 35,8 | 37,5 | 71 | 0,5 | 1/2 ständig gekochte Milch | 36,3 | 35,2 | 345 | keine Anzeichen eines Shocks |
| a88 | 265 | 1,0 | | 37,7 | 38,3 | 71 | 1,0 | | 37,8 | 35,2 | 360 | Dgl. |
| a36 | 295 | 1,0 | 1/2 ständig im Wasser- bad gekoch- te Milch | 37,0 | 36,4 | 21 | 0,8 | 5,2 % erh. Kas.-Amm.- Lsg. (Lsg. II) | 36,8 | 35,8 | 335 | „ |
| a61 | 320 | 1,0 | | 37,1 | 37,3 | 21 | 1,0 | | 37,3 | 36,0 | 330 | etwas Haarsträu- ben, blasse Pfo- ten, sonst o. B. |
| a25 | 265 | 0,01 | Diphtherie- Rinderser. IVR (Höchst) | 36,8 | 35,4 | 21 | 1,1 (!) | 7,2 % erh. Kas.-Amm.- Lsg. (Lsg. II) | 36,3 | 33,5 | 310 | einige Putzbeweg- ungen, aber kein Shock |
| a46 | 310 | 0,03 | 1 ccm = 100 IE. | 36,7 | 35,8 | 21 | 0,8 | | 36,0 | 33,6 | 285 | Dgl. |
| a87 | 275 | 0,8 | 5 % erh. Kas.-Amm.- Lsg. (Lsg. II) | 36,8 | 36,6 | 29 | 0,01 | Diphtherie- Rinderser. IVR (Höchst) | 35,9 | 34,8 | 270 | keine Krämpfe, noch atyp. Ver- halten |
| a90 | 200 | 0,9 | | 37,2 | 37,0 | 29 | 0,08 | 1 ccm = 100 IE. | 36,5 | 34,0 | 225 | Dgl. |
| a23 | 345 | 0,01 | Diphtherie- Pferdeser. IVD (Höchst) | 36,5 | 37,7 | 21 | 1,0 | 5 % erh. Kas.-Amm.- Lsg. (Lsg. II) | 37,2 | 35,4 | 335 | „ |
| a71 | 400 | 0,08 | 1 ccm = 500 IE. | 36,8 | 38,2 | 21 | 1,0 | | 37,1 | 35,0 | 355 | „ |

keine Affinität mehr zu dem Kaseinmolekül gekochter Milch besitzt und ebensowenig zeigt die Umkehrung des Experiments diese Affinität. — Das negative Ergebnis der Prüfung der Kasein-Ammoniaklösung gegenüber Rinderserum hat ein Analogon in anderen Beobachtungen, wie z. B. in der Tatsache, daß mit Milchkasein erzeugte Laktosera nur schwach oder überhaupt nicht gegenüber homologem Blutserum Komplement binden (Kudicke und Sachs). Auch hier geht wieder die anaphylaktogene Eigenschaft der Komplementbindung parallel. Nicht in diesem Sinne spricht dagegen die Angabe Amberg's, daß ein durch Kasein-Ammoniumlösung erzeugtes Laktoserum auch Milch zu fällen imstande sei. Es dürfte jedoch eine Nachprüfung dieser Angabe von Interesse sein.

Daß gegenüber Pferdeserum — als heterologem Eiweiß — eine positive Reaktion auftrate, war nicht zu erwarten, doch ist der Vergleich der Temperatur für die Bewertung des

Temperaturrückgangs bei den übrigen Versuchen bemerkenswert.

Bevor ich mich nun der Besprechung der Symptome zuwende, die ich an meinen Tieren beobachten konnte, möchte ich vorausschicken, daß sämtliche Tiere teils aus eigener Zucht hervorgingen, teils von einwandfreier Abstammung waren, so daß eine ererbte Anaphylaxie oder eine allergische Reaktionsfähigkeit auszuschließen ist.

Biedl und Kraus haben bei der experimentellen Analyse der anaphylaktischen Vergiftungen als erste deutlich zum Ausdruck gebracht, daß die Anaphylaxiesymptome für jede Tierart verschieden sind. Das muß bei der Beurteilung aller Anaphylaxieerscheinungen stets berücksichtigt werden. Ebenso wie niemals die Angabe unterlassen werden sollte, welcher Reinjektionsmodus gewählt wurde, denn davon hängt für die Beurteilung alles ab. Es fragt sich auch, ob man nicht auch nach dem Injektionssubstrat klassifizieren müßte, denn es gibt eine Reihe Erscheinungen, die anaphylaktische Symptome „imitieren“, über deren Zugehörigkeit zur „echten“ Anaphylaxie bisher jedoch noch keine Einigung unter den Gelehrten erzielt ist, wie z. B. bei den anaphylaktoiden Symptomen nach Injektion von „Anaphylatoxin“ Friedbergers oder bei jener Noxe, die nach intravenöser Injektion von Kieselsäurehydrosol und anderer eiweißfällender Kolloide auftreten. Doerr sagt in seiner zusammenfassenden Uebersicht der Anaphylaxieergebnisse (bis 1914), daß die physiologischen Kriterien einerseits bei wahrer Anaphylaxie fehlen, andererseits in mehr oder minder großer Intensität bei Eingriffen auftreten können, die zu anaphylaktischen Prozessen in keiner nachweisbaren Beziehung stehen. Im gleichen Sinne spricht sich auch Citron aus (Fol. Serolog., Bd. 8, S. 350). Seit der Niederschrift jener Zeilen haben unsere Ansichten über das Wesen der Anaphylaxie eine nicht unwesentliche Modifikation erfahren, seit Sachs und Bechhold neuerdings die Frage vom Standpunkt der Kolloidchemie aufrollten und die physikalische Erklärung in den Vordergrund rückten. Der Gedanke, daß es sich bei der Reaktion anaphylaktogener Antikörper-Antigen („Antisensibilisin-Sensibilisinogen“) um physikalische Zustandsveränderungen handle, hat auch schon Besredka ausgesprochen, indem er zum Ausdruck bringt, daß jene Substanz in einem zweifachen physikalischen Zustande in Erscheinung trete. Es sei jedoch gleich vorweggenommen, daß alle Anaphylaxiesymptome sich weder mit der chemischen noch mit der physikalischen Theorie restlos erklären lassen. Der Weg, um Ordnung in diese verwirrende Fülle des Tatsachenmaterials zu bringen und um zu entscheiden, was als „echte“ Anaphylaxie und was als „anaphylaktoide“ Erscheinung anzusprechen ist, scheint mir der zu sein, den Ausfall des Tierexperiments nach pathologisch-physiologischen und anatomischen Erscheinungen hin zu werten. So glaube ich, lassen sich die verschiedenen Krankheitsbilder schärfer umreißen. Am eingehendsten dürfte bezüglich

der physiologischen und anatomischen Veränderungen der „Serumshock“ des Meerschweinchens studiert sein, der einen ganz bestimmten Symptomenkomplex abgrenzen läßt, wie ihn Biedl und Kraus eingehend untersucht und beschrieben haben. Bei dieser Serumanaphylaxie des Meerschweinchens ist die Lungenblähung, die durch Krampf der Bronchialmuskulatur zur Erstickung des Tieres führt, ein ganz charakteristisches Symptom. Ich habe diese Erscheinung bei meinen sämtlichen Versuchstieren, die ad exitum kamen, gleichfalls beobachten können.

Ein ganz besonders auffälliges Zeichen boten weiße Meerschweinchen mit roten Augen, bei diesen fiel regelmäßig das Auge auf, das nach der intravenösen Reinjektion durch eine livide Verfärbung bei maximal erweiterter Pupille (vor Eintritt aller übrigen Symptome) den Shock anzeigte. Dieses Phänomen erklärt sich wohl aus der Reizung des Sympathicus und einem Krampf der Gefäße des Augenhintergrundes. Spiegelte man das Auge, so waren keine Gefäßstämme mehr am Augenhintergrund zu erkennen. Zu dieser Erscheinung gesellte sich eine zweite, die ebenfalls diese Albinos nie vermissen ließen. Die rosafarbenen Sohlen dieser Tiere wurden noch vor Eintritt des eigentlichen Shockes blaß und blutleer. Diese Erscheinung kann nicht aus dem plötzlichen Abfall des Blutdruckes, wodurch es nur zur venösen Stauung im Kapillargebiet kommen müßte, erklärt werden, sondern es scheint, wie das auch am Auge zu beobachten ist, eine Reizung des Vasomotorenzentrums zu erfolgen, im Sinne vasokonstriktorischer Einflüsse. Diese beiden Symptome finden sich jedenfalls nicht nur bei Albinos, sondern auch bei anderen Meerschweinchen, nur ist dort die Beobachtung durch das dunkle Auge und die pigmentierten Füße bedeutend erschwert. So müssen auch diese Erscheinungen als Charakteristika des anaphylaktischen Eiweißshocks gebucht werden. Sie zeigen uns, daß nicht nur der Vagus, sondern ebenso auch das autonome Nervensystem, vor allem der Sympathicus, gereizt wird. Ob der Reiz als Reflex über das Zentralorgan geleitet wird, oder direkt an den Nervenkerne angreift, möchte ich hier nicht entscheiden.

Schließlich muß noch auf die Herabsetzung der Blutgerinnung und der Temperatur als zwei Kardinalsymptome eingegangen werden. Die erstere läßt sich beim Meerschweinchen nach Biedl und Kraus nur mittels der Kapillarmethode von Wright feststellen. Makroskopisch fand sich bei der Sektion an meinen Meerschweinchen nach Durchschneidung der Gefäßstämme am Herzen stets eine reichliche Menge ungeronnenen Blutes, $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Stunde post exitum.

Was die Temperatur betrifft, so muß zur kritischen Würdigung zunächst auf die Erscheinungen bei der Sensibilisierung eingegangen werden. Zur Technik der Messung selbst darf vielleicht auch ein Wort gesagt werden. Es gibt eine Reihe Fehlerquellen, die zu ungenauen Resultaten führen müssen, besonders bei Verwendung der üblichen Meerschweinchen-thermometer, die nur halbe Grade auf der Skala verzeichnen. 1) zeigen sich je nach Tiefe der Einführung des Thermometers in das Rectum Unterschiede von $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}^{\circ}$; 2) können sich je nach Füllung der unteren

Darmabschnitte Unterschiede bis zu 2 ° ergeben, so daß erst nach Defäkation ein richtiges Resultat erhalten wird. Es empfiehlt sich daher stets durch Zurückziehen des Thermometers sich zu überzeugen, daß der Darm frei ist und das Thermometer stets bis zu einer bestimmten Grenze, z. B. bis zum Beginn des Kapillarröhrchens, einzuführen.

Es muß dies der Besprechung der Temperaturschwankungen vorausgeschickt werden, da nach Pfeiffer bereits eine Senkung um 1 ° C (bei einem 300 g schweren Meerschweinchen) und bei einer Reinjektionsdosis nicht über 0,01 cem (eines bei 57 ° inaktivierten Serums) als ein für Anaphylaxie spezifisches Symptom betrachtet werden soll.

Zunächst wenden wir uns der Betrachtung der Temperaturen bei einer einmaligen intraperitonealen Sensibilisierung zu. Hier kann keinerlei Gesetzmäßigkeit festgestellt werden. Die einen Tiere reagierten mit einem Temperaturrückgang bis zu 1 °, extrem sogar bis zu 3 ° (486 VII), die anderen mit Temperaturerhöhung um mehrere Zehntel bis zu 1 °, ja selbst noch höhere Steigerungen kommen vor. Ganz analoge Erscheinungen finden sich auch bei Sensibilisierung mit anderen Antigenen, z. B. Milch und Antiseren. Gemessen wurde stets unmittelbar vor und 10—15 Minuten nach der Injektion.

Ebenso unregelmäßig verhielten sich die Temperaturen bei mehrfacher Sensibilisierung. Zwei Beispiele wie sie nachstehende ausführliche Protokolle bringen, sprechen am besten für sich selbst.

Tabelle XI.
No. 480.

| Datum | Dosis ip. in cem | 165 ° erhitzte Kasein- Ammoniumlösung | Temperatur | | Gewicht |
|---------|---------------------|--|------------|------|---------|
| | | | vor | nach | |
| 3. IV. | 0,2 | 6,1 % | 37,1 | 37,0 | 455 g |
| 6. IV. | 0,12 | 7,2 „ | 36,7 | 38,3 | — |
| 10. IV. | 0,1 | 5,6 „ | 36,5 | 33,5 | — |
| 13. IV. | 0,1 | 7,2 „ | 37,0 | 36,5 | — |
| 18. IV. | 0,1 | 4,8 „ | 36,5 | 36,5 | 450 g |

No. a 64.

| Datum | Dosis ip. in cem | 2 Std. auf 100 ° erhitzte Kas.-Ammoniumlösung | Temperatur | | Gewicht |
|---------|---------------------|--|------------|------|---------|
| | | | vor | nach | |
| 9. XI. | 0,2 | 5,5 % | 35,3 | 36,0 | 290 g |
| 14. XI. | 0,2 | dgl. | 36,0 | 36,7 | — |
| 17. XI. | 0,2 | „ | 37,0 | 36,5 | 370 g |
| 21. XI. | 0,1 | „ | 36,7 | 37,0 | — |
| 25. XI. | 0,1 | „ | 37,4 | 35,6 | 365 g |

Daß es bei einem starken Temperaturrückgang bei a 64 nach der letzten sensibilisierenden Injektion nicht um einen Shock gehandelt hat, darf aus drei Gründen für wahrscheinlich erachtet werden: 1) zeigte das Tier nach der Injektion kein irgendwie atypisches Verhalten, sondern blieb munter; 2) müßte es für den Fall, daß es sich um einen Shock gehandelt habe, antianaphylaktisch geworden sein, es reagierte aber mit tödlichem Shock bei der Prüfung; 3) zeigte sich die gleiche Erscheinung schon bei der zweiten und dritten Injektion und wurde auch an anderen Tieren, die bei der Probe typisch reagierten, beobachtet.

Wir kommen damit zu dem Schluß, daß die Sensibilisierungstemperaturen sich absolut atypisch verhalten und solch erhebliche Schwankungen zeigen, daß aus einer Temperatursenkung um 1° bei der Reinjektion, wenn alle anderen Zeichen fehlen, nicht unbedingt auf einen anaphylaktischen Insult geschlossen werden kann.

Bei den Reinjektionstemperaturen zeigt sich insofern eine Gesetzmäßigkeit als durchgehend die Tendenz des Temperaturabfalles um ein bis mehrere Grad vertreten ist. Die Dosen für eine Temperatursteigerung dürften für die sensibilisierten Tiere noch zu hoch gewesen sein. Auffällig war, daß Tiere mit einem kurzen, heftigen Shock, an dem sie verendeten, in der Regel viel geringere Temperaturrückgänge zeigten, als jene, die an einem protrahierten Shock eingingen oder überlebten. Am deutlichsten kommt letztere Erscheinung bei 480, 493, 494 und a 74 zum Ausdruck. Doch läßt sich auch hier keine Gesetzmäßigkeit erkennen. Wie man sich das Zustandekommen des Temperaturabfalles vorzustellen hat, ist eine völlig ungeklärte Frage. Nach Doerr und E. Pick dürfte er nach intravenöser Reinjektion des Antigens durch unmittelbare Reizung oder Lähmung des Wärmereizentrums entstehen. Jedenfalls lautete das Schlußurteil, wie Doerr bekennt: *ignoramus*.

Endlich sei noch ein weiteres Symptom erwähnt, das gleichfalls die Reizung des Sympaticus anzeigt — die Erregung des Darmes. Postmortal, wenn die Bauchdecken erschlafft waren, zeigten sich noch erhebliche Darmsteifungen, die einige Minuten anhielten. Diese Erscheinung sowie die Kontraktion der Blasenmuskulatur sind hinreichend bekannte Symptome.

Ich erwähne sie nur der Vollständigkeit halber, da sie an meinen Fällen durchweg zur Beobachtung kamen.

Zusammenfassung.

1) Kasein-Ammoniumlösungen verlieren auch durch weitgehendste physikalische Eingriffe (Erhitzung) nicht den Charakter als Anaphylaktogen.

2) Auch das Molkeneiweiß wirkt in hohem Grade sensibilisierend und shockauslösend. Es zeigt sich keine schützende Wirkung einem mit Kasein-Ammoniumlösung präparierten Meerschweinchen gegenüber.

3) Mit Kasein-Ammoniumlösungen erzeugte Anaphylaxie läßt sich auch passiv übertragen.

4) Heterologe Eiweißarten (Milch, Diphtheriepferde- und -rinderserum) wirken weder präparierend noch shockauslösend gegenüber Kasein-Ammoniumlösungen. Dies zeigt die ausgeprägte Konstitutionsspezifität des Kaseins, die sich bis auf das Molekül erstrecken muß.

5) Der durch Kasein-Ammoniumlösungen ausgelöste Shock zeigt typische Symptome (Lungenblähung, herabgesetzte Blutgerinnung, Temperaturabfall, Kontraktion der Darm- und Blasenmuskulatur).

6) Die Reizung des Sympathicus drückt sich besonders stark an der Pupille (maximale Erweiterung) und an dem Verhalten der Kapillargefäße des Augenhintergrundes und der Extremitäten (vasokonstriktorische Einflüsse) aus (an Albino-meerschweinchen stets wahrnehmbar!).

7) Der Temperaturabfall um 1° C kann für sich allein nicht als ein charakteristisches Symptom der Anaphylaxie erachtet werden, denn er findet sich oft genug auch nach der ersten Injektion.

Es bleibt mir noch die angenehme Pflicht, Frl. Dr. phil. B. Geiselbrecht an dieser Stelle für die tätige Mitarbeit auf chemischem Gebiet meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

Bechhold, Die Kolloide in der Biologie und Medizin, 1919.

Besredka, Ueber Anaphylaxie. Handbuch der Immunitätsforschung von Kraus-Levaditi, 1911.

- Biedl und Kraus, Die experimentelle Analyse der Anaphylaxievergiftung. Ebendort, 1911.
- Doerr, Die Anaphylaxie. Ebendort, 1909.
- Neuere Ergebnisse der Anaphylaxieforschung. Weichardts Ergebnisse der Immunitätsforschung, Bd. 1, 1914.
- Gildemeister und Seiffert, Zur Frage der Anaphylaxiegefahr bei der Proteinkörpertherapie. Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 24.
- Kudicke und Sachs, Ueber das biologische Verhalten roher und gekochter Milch. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, 1914.
- Pfaundler, Physiologie der Laktation (Anhang). Milchkunde. Sommerfeld, 1909.
- Sachs, Anaphylaxie und Anaphylatoxin. Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 39.
- Uhlenhuth und Haendel, Verwertung der Anaphylaxiereaktion für die biologische Eiweißdifferenzierung. (Aus Uhlenhuth und Weidanz, Praktische Anleitung zur Ausführung der biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahren usw.)

Nachdruck verboten

[Aus der II. med. Abteilung des Krankenhauses Wieden in Wien
(Vorstand: Primarius Doz. Dr. Richard Bauer).]

Zur Theorie und klinischen Verwendbarkeit der Meinicke-Reaktion.

II. Mitteilung.

Von

Doz. Dr. R. Bauer und Dr. W. Nyiri
Vorstand der Abteilung. Assistent der Abteilung.

(Eingegangen bei der Redaktion am 7. August 1922.)

In unserer I. Mitteilung (s. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921) haben wir uns mit der praktischen Bedeutung und der Theorie der D.M.-Reaktion befaßt.

In bezug auf die praktischen Ergebnisse sind wir zu der Ueberzeugung gekommen, daß die D.M.R. bei größerer Einfachheit der Wassermannschen Reaktion gleichwertig ist. Neuere Erfahrungen an 2050 Fällen haben unsere damaligen Resultate im wesentlichen bestätigt. Die folgende Zusammenstellung enthält die diesbezüglichen Daten:

| | Anzahl der Fälle | Proz. |
|----------------------|------------------|--------|
| Wa. R. +, D. M. R. + | 342 | 91,41 |
| Wa. R. —, D. M. R. — | 1532 | |
| Wa. R. +, D. M. R. — | 70 | 3,42 |
| Wa. R. —, D. M. R. + | 106 | 5,17 |
| Summe | 2050 | 100,00 |

Es zeigt sich also nach dieser Tabelle vollkommene Uebereinstimmung beider Reaktionen in 91,41 Proz. der Fälle, während die Wa.R. allein in 3,42 Proz., die D.M.R. allein in 5,17 Proz. positiv ausfällt. Was zunächst jene Fälle anbelangt, bei denen die beiden Seroreaktionen übereinstimmend positiv waren, was insgesamt 342mal zutraf, so war die Lues in 326 Fällen anamnestisch, durch objektive Symptome oder auch durch positiven Autopsiebefund sichergestellt. Bei den restlichen 16 Kranken war für eine vorhergegangeneluetische Infektion kein Anhaltspunkt zu finden; doch ließ sich naturgemäß die Lues bei allen diesen Kranken nicht ausschließen. Unter den Diagnosen dieser Kranken sind fünfmal Grippepneumonie, dreimal schwere Lungen- bzw. Larynxtuberkulose, zweimal Icterus catarrhalis und je einmal Meningitis tbc., Pyelonephritis, Cholelithiasis, Malaria, Encephalitis und Pleuritis verzeichnet. Die Frage, inwieweit die beiden Seroreaktionen bei diesen 16 Fällen trotz fehlender Anhaltspunkte dennoch eine latente Lues anzeigen, muß dahingestellt bleiben.

In unserer Zusammenstellung finden sich 3,42 Proz., bei denen die Wa.R. allein positiv ausfiel. Von diesen 70 Fällen war bei 57 eineluetische Infektion entweder anamnestisch oder durch die objektive Untersuchung feststellbar, während sich in den restlichen 13 Fällen (0,63 Proz.) eine allenfalls einmal stattgehabte Infektion nicht mit Sicherheit nachweisen ließ.

Von unserem Material ergaben 5,17 Proz. die D.M.R. positiv, wogegen die Wa.R. negativ ausfiel. Diese Rubrik umfaßt 106 Fälle, von denen bei 94 die Lues festgestellt war, während sich wieder bei 12 Kranken (0,59 Proz.) keine sicheren Anhaltspunkte dafür gewinnen ließen, daß eineluetische Infektion je erfolgt wäre. Inwieweit bei diesen letztgenannten 12 Fällen, sowie bei den nach der Wa.R. allein positiven

13 Kranken, bei denen weder anamnestisch noch objektiv eine Lues konstatierbar war, eine eventuelle Lues latens oder occulta bei der Reaktion mitspielt, läßt sich naturgemäß nicht entscheiden. Wie wir schon in der ersten Mitteilung bemerkt haben, werden sich solche vereinzelt Fälle immer finden und mit Rücksicht auf die Unmöglichkeit, eine Lues auszuschließen, immer ungeklärt bleiben. Jedenfalls ist die Zahl dieser unklaren Fälle für beide Reaktionen prozentuell annähernd die gleiche.

Wir finden demnach, daß die D.M.-Reaktion und die Wa.-Reaktion eine weitgehende Uebereinstimmung zeigen und die D.M.R. im Vergleich zur Wa.R. etwas mehr Luesfälle anzeigt, ohne daß die Gefahr eventuell unspezifischer Resultate bei einen der beiden Reaktionen eine größere wäre. Auch diesmal haben wir den Eindruck gewonnen, daß Blutsera von manchen Fällen mit hohem Fieber, ausgebreitetem Gewebszerfall usw. bei der D.M.R. zuweilen ganz schwache Flockungen hervorrufen. Wir glauben daher auch weiterhin, daß bei diesen Krankheitsgruppen in der Bewertung der positiven Resultate der D.M.R. einige Vorsicht am Platze ist, wie dies bekanntlich auch für die Wassermannsche Reaktion gefordert wird.

Eine Anzahl von Lumbalflüssigkeiten hatten wir auch Gelegenheit zu untersuchen. Unsere diesbezüglichen Resultate stimmen vollkommen mit den korrespondierenden der ersten Arbeit überein. Wir können sagen, daß die D.M.R. bei Verwendung etwas größerer Liquormengen (0,5 ccm) der Wa.R. im Liquor ebenbürtig an die Seite gestellt werden kann und mit dieser fast ausnahmslos übereinstimmt.

Zusammenfassend läßt sich über die praktischen Resultate neuerdings feststellen, daß die D.M.R. sowohl für Blutsera, wie für Cerebrospinalflüssigkeiten eine sehr gut brauchbare serologische Methode zum Nachweis der Lues vorstellt und der Wa.R. mindestens gleichwertig ist. Sie bedeutet einen neuen großen Fortschritt auf dem Gebiete der Serodiagnostik; trotzdem ist aber zu empfehlen, die D.M.R. und die Wa.R. nach Möglichkeit immer nebeneinander anzustellen, weil doch jede Reaktion eine, wenn auch

geringe Anzahl von Luesfällen allein anzeigt, so daß erst durch gleichzeitige Anstellung beider Reaktionen ein Optimum an Resultaten zu erzielen ist.

Bezüglich der Technik verweisen wir auf unsere ausführlichen Angaben in der ersten Arbeit und fügen nur hinzu, daß auch Kontrollen mit alkoholischem,luetischen Leberextrakt ohne wesentlichen Einfluß auf die Versuchsergebnisse waren. Dies stimmt ja auch mit den Vorschriften des Reichsgesundheitsamtes (Volkswohlfahrt No. 13, Berlin) gegebenen Regeln überein, nach denen auch das Resultat mit alkoholischem,luetischen Leberextrakt überstimmt wird, wenn eine Mehrzahl nichtspezifischer Extrakte ein anderes Resultat gibt. Diese Verhältnisse werden hoffentlich durch die neuerdings erprobte Bestätigungsreaktion [Wassermann (2), Citron (3)] eine Klärung erfahren.

In bezug auf die Theorie der Meinicke-Reaktion haben sich unsere weiteren Untersuchungen zunächst wieder damit beschäftigt, festzustellen, ob die Flockenbildung bei der D.M.R. mit dem Ausgleich von elektrischen Ladungen zwischen Serum und Extrakt in ursächlichem Zusammenhang steht. Hierzu wäre vor allem ein exakter Nachweis der elektronegativen Ladung der Lipoidteilchen des Extraktes notwendig. Obwohl eine solche Ladung a priori wahrscheinlich ist, ist uns ein solcher Nachweis speziell im elektrischen Ueberführungsversuch im Apparat von Landsteiner und Pauli (4) bisher nicht gelungen. Dagegen haben Epstein und Paul (5) neuerdings eine solche negative Ladung durch einen Ueberführungsversuch nachzuweisen versucht. Bei Demonstration dieser Versuche in der Wiener Biologischen Gesellschaft ließ sich aber unschwer ersehen, und wurde auch von W. Pauli (6) und uns (7) festgestellt, daß die Versuchsanordnungen nicht entsprechend und daher auch die Versuchsergebnisse nicht beweisend waren.

Bei dieser Gelegenheit wurde auch neuerdings die Frage der chemischen Konstitution der D.M.-Flocken erörtert. Wir haben in unserer ersten Mitteilung aus verschiedenen Versuchen geschlossen, daß die D.M.-Flocken zum größten Teil aus Lipoiden bestehen, waren aber außerstande, über die Beimengung von Eiweiß etwas Sicheres auszusagen. Bekannt-

lich herrschten über diesen Punkt bis in die jüngste Zeit Meinungsverschiedenheiten, indem die einen [Weisbach und Klostermann (8)] darauf beharren, daß die D.M.-Flocken Lipoid und Eiweiß enthalten, während die anderen [Epstein und Paul (9)] an der Eiweißfreiheit der Flocken festhalten. Lieb (10) hält die Flocken auch für eiweißfrei und betrachtet die kleinen gefundenen Eiweißmengen als nicht zu entfernende Verunreinigung. Wir selbst haben die von diesen Autoren geübten Methoden nicht verwendet, weil uns die Methodik a priori aussichtslos erschien, d. h. es war uns klar, daß eine einwandfreie Isolierung der D.M.-Flocken aus dem eiweißhaltigen Medium zum Zwecke chemischer Analyse undurchführbar sei. Tatsächlich ist es bisher auch keinem der genannten Autoren gelungen, mit dieser Methode zu einem einwandfreien Resultat zu kommen. Es war ein glücklicher Gedanke von Otto und Winkler (11), dieses Problem mittels der Anaphylaxiemethode anzugehen. Es scheint auf diesem Wege bewiesen zu sein, daß die D.M.-Flocken der positiven Reaktion aus einer Verbindung von Lipoiden und Serumeiweiß bestehen. Diese Annahme mußte a priori als die wahrscheinlichste erscheinen und wäre sogar für die elektrische Theorie von Epstein und Paul (12) zu postulieren gewesen.

Im ersten Teil der Arbeit haben wir auch exakt nachgewiesen, daß kein Unterschied in der Art und Stärke der Ladung zwischen normalen undluetischen Blutseris besteht und daß daher die Flockenbildung bei der D.M.R. mit einem eventuellen Ausgleich elektrischer Ladungen in keinem ursächlichen Zusammenhang steht. Diesen Nachweis konnten wir durch eine exakte Versuchsanordnung führen, bei der die H-Ionenkonzentration durch Zusatz von Pufferlösungen genau abgestuft und reguliert wurde¹⁾. Dementsprechend ließ sich auch zeigen, daß sowohl

1) Diese Versuchsanordnung weicht nicht, wie Epstein und Paul meinen (Kolloid-Zeitschr., Bd. 31, 1922), von der „allgemein üblichen Methode“ ab, da die H-Ionenkonzentrationen bei den üblichen Pufferlösungen mit vorgeschriebener Zusammensetzung bekannt sind [s. Pauli (13)] und die Pufferreihe überdies geschlossen ist. Jedenfalls käme aber als Kontrolle nicht die Indikatoren-, sondern die Gaskettenmethode in Betracht.

die positiven als auch die negativen D.M.-Reaktionen im sauren und alkalischen Medium in mittlerer Breite sowohl bei Ablesung mit freiem Auge wie mit dem Agglutinoskop ganz unverändert bleiben; erst vom isoelektrischen Punkt des Serumeiweißes an tritt massige Koagulation der Eiweißkörper des Serums ein. Die entgegengesetzten Beobachtungen von Epstein und Paul (12) sind wohl nur so zu erklären, daß der Versuch in jener Breite noch verwertet wurde, wo eine deutliche Säure- und Alkaliwirkung auf das Eiweiß sich geltend macht. Eine Täuschung durch die Einwirkung der Säure auf die D.M.R. ist dann um so leichter möglich, wenn man in der Kontrolle nur die Säure und nicht auch den vorhandenen Alkoholgehalt berücksichtigt, und dies deswegen, weil in der D.M.R. doch stets Alkohol vorhanden ist. Bekanntlich beruht ja nach der Versuchsanordnung von Pauli, Matula und Samec (13) die Methode zum Nachweis des isoelektrischen Punktes darauf, daß das durch den entsprechenden Säurezusatz entladene Eiweiß durch Alkohol zur Flockung gebracht wird. Daher ist die durch Säurezusatz auftretende Flockung zwar keine Säureflockung, wie Epstein und Paul richtig bemerken, aber noch weniger eine Meinicke-Flockung, sondern eine Säure-Alkoholflockung in der iso-

D.M.R. mit

| Salzsäure Tropfen | n/1000 | | | | |
|--|--------|-----|-----|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 0,8 Luesserum mit 0,1 alkohol. D.M.-Extrakt + 0,05 H ₂ O + 0,7 NaCl 2-proz. | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 0,8 Normalserum mit 0,1 alkohol. D.M.-Extrakt + 0,05 H ₂ O + 0,7 NaCl 2-proz. | — | — | — | — | — |

Derselbe Versuch statt mit Extrakt mit reinem Alkohol angesetzt.

| Salzsäure Tropfen | n/1000 | | | | | n/100 | | | | | n/10 | | | | | n/1 | | | | |
|---|--------|---|---|---|---|-------|---|---|---|---|------|---|-----------------|-----------------|---|-----|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 0,8 Luesserum mit 0,1 Alkohol 95-proz. + 0,05 H ₂ O + 0,7 NaCl 2-proz. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — ¹⁾ | — ²⁾ | k | k | k | k | k | k |
| 0,8 Normalserum mit 0,1 Alkohol 95-proz. + 0,05 H ₂ O + 0,7 NaCl 2-proz. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | k ²⁾ | k | k | k | k | k | k |

1) Trübung, 2) starke Trübung, k Koagulation.

elektrischen Zone im Sinne der eben genannten Reaktion von Pauli, Matula und Samec.

Dies läßt sich als Ergänzung unserer Versuchsreihen unschwer durch folgenden schlagenden Versuch zum Ueberfluß erhärten: Man stellt mit einem Normalserum unter Zusatz steigender Säuremengen (bzw. Pufferlösungen) eine regelrechte D.M.R. an und sieht, daß von einem gewissen Säurezusatz an Trübung bis Koagulation auftritt (scheinbares Positivwerden der D.M.R.). Jetzt die Kontrolle: Man wiederholt denselben Versuch ganz konform, mit der einzigen Abänderung, daß statt des Meinicke-Extraktes reiner Alkohol verwendet wird, wie dies folgende Tabelle zeigt.

Man sieht auf den ersten Blick, daß dieser Kontrollversuch, der gar keinen D.M.-Extrakt enthält, in derselben Zone dieselbe Trübung bis Koagulation aufweist, die im ersten Versuch fälschlicherweise als D.M.-Flockung imponieren könnte. Damit ist endgültig bewiesen, daß die durch Säurezusatz erzielte positive D.M.-Reaktion eines Normalserums eine Scheinreaktion ist, vorgespiegelt durch Eiweißfällung infolge Zusammenwirkens von Säure und Alkohol in der isoelektrischen Zone.

In bezug auf die Versuche im alkalischen Medium haben

reiner Säure.

| n/100 | | | | | n/10 | | | | | n/1 | | | | |
|-------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-------------------|------------------|---|-----|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ ¹⁾ | ++ ²⁾ | k | k | k | k | k | k |
| — | — | — | — | — | — | — | — | k ³⁾ | k | k | k | k | k | k |

wir unseren früheren, ebenso eindeutigen Versuchen nichts Neues hinzuzufügen.

Vom Standpunkte der Theorie der Meinicke-Reaktion erscheint uns noch ein Punkt bemerkenswert, auf den bisher, wie wir glauben, nicht genügend Gewicht gelegt wurde; es ist dies die Frage nach der eventuellen Spontanflockung des D.M.-Extraktes, d. h. die Frage, ob ein Extrakt, der nach einstündigem Stehen mit der halben Menge destillierten Wassers mit der siebenfachen Menge 2-proz. Kochsalzlösung

versetzt wird, im Laufe der nächsten 24 Stunden, bzw. im Laufe der nächsten Tage überhaupt, eine mit freiem Auge oder zumindest mit dem Agglutinoskop deutlich wahrnehmbare Flockung aufweist. Wir konnten bei unseren Versuchen mit der D.M.R. feststellen, daß mehrere Extrakte, die mit der gleichen Sorgfalt, unter den gleichen Kautelen hergestellt wurden und die bei der Auswertung sowohl im Vorversuch als auch in der Anwendung an einer großen Zahl von Seris vollkommen übereinstimmende, gute praktische Resultate lieferten, sich diesbezüglich verschieden verhielten. Die einen kamen auch nach mehrtägigem Stehen nicht zur Flockung, sondern zeigten bei Betrachtung im Agglutinoskop nur jene undeutliche, feinste, dichte Körnelung, die alle feinverteilten Suspensionen aufweisen, die der Extrakt schon sofort nach der Verdünnung mit der siebenfachen Menge 2-proz. NaCl-Lösung erkennen läßt und die auch in den meisten mit Normalseris angesetzten D.M.-Reaktionen nach Ablauf der Reaktionszeit (24—72 Std.) bei genauer Inspektion zu sehen sind. In den anderen dagegen findet man nach 24-stündigem Stehen bei Brutschranktemperatur, zuweilen auch schon bei Zimmertemperatur, kleine Flocken, die etwa dem, bei dem Original-D.M.-Versuch mit einem Kreuz bezeichneten, schwach positiven Reaktionsausfall gleichen. Niemals haben wir bisher beobachten können, daß diese kleinen Flocken im Verlaufe der nächsten Tage sich zu größeren zusammengeballt hätten, wie dies die D.M.-Reaktion bei weiterem Stehen zeigt, und niemals hat diese „Spontanflockung“ gemäß unserer Beobachtung stärkere Grade erreicht, die vielleicht einer starken oder komplett positiven D.M.R. vergleichbar gewesen wären.

Versetzt man solche „spontanflockende“ Extrakte nachträglich mit Normalseris, so sind nach weiteren 24 Stunden die „Spontanflocken“ des Extraktes verschwunden. In diesem Sinne läßt sich vielleicht von einer Schutzwirkung des Normalserums auf den Extrakt in bezug auf eine eventuelle Flockung sprechen, wobei wir dahingestellt sein lassen wollen, ob dieser scheinbare „Schutz“ nicht einfach einer chemischen Einwirkung des Serums auf die Extraktlipide gleichkommt, wie dies jüngst für die Mastixreaktion von Presser und Weintraub

bewiesen wurde (14). Die bei Verwendung solcher Extrakte resultierenden positiven und negativen Reaktionen unterscheiden sich aber in keiner Weise von denen, die man mit nicht spontanflockenden Extrakten erhält.

Es erscheint uns wichtig, dieses gleichartige Verhalten mit Nachdruck zu betonen, weil es eindeutig zeigt, daß die Eigenschaft mancher Extrakte, spontan auszuflocken, kein wesentliches Merkmal eines guten Extraktes ist und die „Spontanflockung“ daher mit der eigentlichen Ausflockung des Extraktes durch ein luetisches Serum in keinem ursächlichen Zusammenhang zu stehen scheint¹⁾. In dieser Auffassung bestärken uns ja auch die jüngst erschienenen Versuche von Otto und Winkler (11), die auf dem Wege der oben zitierten Anaphylaxieversuche bewiesen haben, daß die echten, durch Luessera hervorgerufenen D.M.-Flocken sich in ihrer Zusammensetzung von anderweitigen unspezifischen Flocken (Phase I der zweizeitigen Meinicke-Reaktion bei Verwendung von Normalseris) deutlich unterscheiden.

Zusammenfassung.

Aus allen diesen Versuchen geht hervor, daß die D.M.-Reaktion nicht auf elektrischen Ladungsdifferenzen beruht. Wohl aber stehen diese Befunde mit der Annahme einer echten Immunitätsreaktion nicht in Widerspruch, denn auch bei den sicheren Immunitätsreaktionen ließen sich derartige Ladungsdifferenzen nicht nachweisen, wie auch Höber (15), Field und Teague (16) und Bechhold (17) angeben.

Demnach lassen sich auch unsere Untersuchungen mit der neuerdings von Wassermann gemachten Annahme

1) Die inzwischen von H. Felke erschienene Arbeit (Deutsche med. Wochenschr., 1922, No. 33) enthält die Angabe, daß solche D.M.-Extrakte „Eigenkörnelung“ zeigen, die mit Aether nur kurze Zeit vorbehandelt wurden, wogegen nach ausgiebiger und wiederholter Aetherextraktion den D.M.-Extrakten diese Eigenschaft der Spontanflockung fehlt. Dadurch erklärt es sich, daß unsere Extrakte, bei deren Herstellung 24 Stunden mit Aether extrahiert wurde, häufig keine Spontanflockung zeigen.

in Einklang bringen, daß sowohl die Wassermannsche Reaktion als auch die Flockungsreaktionen echte Antigen-Antikörperreaktionen zwischen Lipoidantigen und -Antikörper seien. Wir haben schon in einer früheren Arbeit (18) der Meinung Ausdruck gegeben, daß die Wassermannsche Theorie (19) durch die letzten Versuche Wassermanns neuerdings an Wahrscheinlichkeit gewonnen haben. Die neuesten Publikationen von Wassermann (2) und Citron (3) scheinen uns in dieser Auffassung Recht zu geben.

Literatur.

- 1) Bauer und Nyiri, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921.
- 2) Wassermann, Klin. Wochenschr., 1922, No. 22.
- 3) Citron, ebenda, 1922, No. 22.
- 4) Landsteiner und Pauli, 25. Kongreß f. inn. Med., 1908.
- 5) Epstein und Paul, Wiener Biol. Ges., Sitzung am 19. Juni 1922.
- 6) W. Pauli, Diskussion zu 5.
- 7) Bauer, Diskussion zu 5.
- 8) Weisbach und Klostermann, Münch. med. Wochenschr., 1922.
- 9) Epstein und Paul, ebenda, 1922.
- 10) Lieb, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 115, 1921.
- 11) Otto und Winkler, Med. Klin., 1922, No. 25.
- 12) Epstein und Paul, ebenda, 1921, No. 29/30; Arch. f. Hyg., Bd. 3, 1921.
- 13) Pauli, Matula und Samec, zit. nach W. Pauli, Kolloidchemie der Eiweißkörper, 1920.
- 14) Presser und Weintraub, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, 1921.
- 15) Höber, Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe. Leipzig.
- 16) Field and Teague, Journ. of exp. Med., Vol. 9, 1907.
- 17) Bechhold, Münch. med. Wochenschr., 1917, No. 39.
- 18) Bauer und Nyiri, Wiener klin. Wochenschr., 1921, No. 35.
- 19) Wassermann, Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 9.

Nachdruck verboten.

Das Komplement als Funktion physikalisch-chemischer Faktoren. Seine Beziehungen zum Fieber, Anaphylaxie, Narkose und Rausch.

Von Doz. Dr. **Hugo Hecht** (Prag).

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. August 1922.)

Vorbemerkung.

Die physikalischen Untersuchungen über die Natur des Komplementes wurden 1913 und im ersten Halbjahr 1914 durchgeführt und abgeschlossen. Es handelte sich um Bestimmung der Oberflächenspannung und der Leitfähigkeit bei den verschiedenen Inaktivierungsarten des Komplements, worüber in 2 Vorträgen in der Wissenschaftlichen Gesellschaft deutscher Aerzte in Böhmen berichtet wurde (13. III. und 8. V. 1914). Die Bezeichnung des Komplements als Funktion wurde zum ersten Male in der Prager medizinischen Wochenschrift, Bd. 39, Juni 1914, No. 25, veröffentlicht.

Komplement und physikalisch-chemische Struktur des Serums.

Die Eigenschaft des Serums, die als Komplement bezeichnet wird, ist innig verknüpft mit dem Zustand des Serums, das, chemisch gesprochen, eine Mischung von Kolloiden (Globuline, Albumine, Lipide u. dgl.) und Elektrolyten (verschiedene Salze) in Wasser darstellt. Dieses Kolloid-Elektrolytgemenge unterliegt allen Gesetzen der Kolloidchemie; so betrachtet, verliert die rätselhafte Funktion des Komplements viel von dem Zauber des Unerklärlichen.

Am auffälligsten ist die Tatsache der Inaktivierung, d. h. der Hemmung der Komplementfunktion durch gewisse Vorgänge, wobei diese Hemmung manchmal nur vorübergehend sein und wieder aufgehoben werden kann; kolloidchemisch gesprochen, liegt ein Prozeß vor, der reversibel ist: das inaktiv gewordene Serum kann wieder reaktiviert werden.

Traube hat zuerst darauf aufmerksam gemacht, daß hitzeinaktiviertes Serum eine Erniedrigung der Oberflächenspannung aufweist. Much konnte das bestätigen. Auch Kisch und Remertz fanden die Oberflächenspannung hitzeinaktivierter Sera erniedrigt.

Ich habe nun systematisch das Verhalten der mit verschiedenen Methoden inaktivierten Sera bezüglich der Oberflächenspannung und Leitfähigkeit untersucht, und konnte feststellen, daß bei allen Vorgängen, die das Komplement inaktivieren, die Oberflächenspannung erniedrigt wird. Bei Inaktivierung durch Alkohol, Aether, Chloroform, Azeton u. dgl. wird auch die Leitfähigkeit verschlechtert, selbstverständlich auch im salzfreien Medium und bei Verdünnung mit destilliertem Wasser. Die einzige Ausnahme macht in jeder Beziehung die Inaktivierung durch starke Salzkonzentration.

Die Erniedrigung der Oberflächenspannung ist aber keineswegs die Ursache der Komplementinaktivierung, sondern es handelt sich um koordinierte Vorgänge, die eine gemeinsame Ursache haben. Diese Ursache bildet die durch verschiedene Vorgänge geänderte physikalisch-chemische Struktur des Serums. Die Komplementfunktion ist an ein in engen Grenzen gehaltenes Optimum des kolloidalen Zustandes im Serum — einfacher an ein gesundes Serum — gebunden. Jede Ueberschreitung nach unten oder nach oben macht die Komplementwirkung unmöglich, setzt sie außer Funktion. Gleicht man diese Verschiebung vom Normalen nach nicht allzulanger Zeit aus, dann kann das Serum in allen seinen Funktionen wie Oberflächenspannung, Leitfähigkeit, Komplementwirkung wieder normal werden. Dieser reversible Vorgang läßt sich bei vorsichtigem Vorgehen einige Male wiederholen (z. B. Eintrocknen des Serums und Wiederauflösen), so daß die Vorstellung eines mit dem gesetzmäßigen Ablauf chemischer Versuche verbundenen Vorganges nicht so unwahrscheinlich ist.

Alle Einflüsse, die den physikalisch-kolloidalen Zustand des Serums so verändern, daß eine der Funktionen des Serums (z. B. die Oberflächenspannung) sich allzusehr vom normalen Optimum entfernt, sind auch für die Komplementfunktion von Bedeutung. So wirkt Erniedrigung der Temperatur auf die

Oberflächenspannung erniedrigend ein; gleichzeitig kann die Komplementfunktion vermindert und bei genügender Temperaturherabsetzung sogar ganz aufgehoben werden, und umgekehrt. Gutsche beobachtete, daß beim Pferde der Komplementgehalt um so geringer war, je niedriger die Körpertemperatur war.

Alles, was die Leitfähigkeit stört, schädigt die Komplementfunktion. Alle Dielektrika, wie Alkohol, Aether, Chloroform, destilliertes Wasser, wirken in diesem Sinne; sie entziehen dem Serum Salze. Rechtzeitige Salzzufuhr kann die deletäre Wirkung dieser Stoffe aufheben. Aehnlich dürften auch Aenderungen der Viskosität das physikalische Gleichgewicht im Serum beeinflussen und damit die Komplementfunktion. Traube hat schon 1912 erklärt, daß das Komplement lediglich physikalische Wirkung ausübe.

Nachstehend einige Tatsachen über das Komplement:

Inaktivierend auf die Komplementfunktion wirken:

- 1) Säuren (Hacker und Noguchi);
- 2) Alkali (Guggenheimer);
- 3) Salzfreies Medium (Sachs und Terruchi);
- 4) Salzkonzentration;
- 5) Alkohol, Aether u. dgl.
- 6) Verdünnung mit destilliertem Wasser (Sachs und Terruchi);
- 7) Kaolin u. dgl. (Friedberger und Salecker);
- 8) Filtration durch Tonkerzen (Ehrlich und Morgenroth);
- 9) Pflanzenschleim (Lingelsheim);
- 10) Hefezellen (Dungern);
- 11) Erwärmen auf 56°;
- 12) Längeres Stehen;
- 13) Schütteln (Ritz, Schmidt und Liebers);
- 14) Kälte von 0° (Noguchi, Ritchie und M'Gowan);
- 15) Ultraviolettes Licht (Kagawa, Friedberger, Abelin und Stiner).

Die Komplementfunktion besteht aus mehreren Faktoren, von denen derzeit das sogenannte Mittelstück (Brand), das Endstück und eine durch Kobragift inaktivierbare dritte Komponente (Sachs und Omorokoff) bekannt sind.

Untersucht man die Wirkung der inaktivierenden Vorgänge auf die einzelnen Komplementfaktoren, so findet man, daß:

- Ad 1) Säuren auf das Mittelstück (M) stärker inaktivierend wirken als auf das Endstück (E), (Guggenheimer);
- ad 2) Alkalien verhalten sich ebenso;
- ad 3) Im salzfreien Medium wird M zerstört, E nicht (Guggenheimer);
- ad 5) Durch Aether werden beide Komponenten schwer geschädigt, nur manchmal bleibt M erhalten;
- ad 6) Bei Verdünnung mit destilliertem Wasser wird nach Bassermann M leichter geschädigt, nach Leschly E;
- ad 7) Kaolin adsorbiert höchstwahrscheinlich M;
- ad 8) Filtration durch Tonkerzen schädigt M (Leschly);
- ad 11) Erwärmen auf 56° inaktiviert E (Marks);
- ad 12) Längeres Stehen inaktiviert M (Leschly, Liefmann);
- ad 13) Schütteln macht M unwirksam;
- ad 14) Durch ultraviolettes Licht wird M eher als E inaktiviert, wenn beide in einer Lösung bestrahlt werden. Isoliert wird E eher geschädigt als M.

Die **Reaktivierung** der Komplementfunktion ist für die physikalisch-chemische Auffassung von großer Bedeutung und doch noch zu wenig gewürdigt.

Hitzeinaktiviertes Serum kann durch Serum, das infolge längeren Stehens inaktiviert wurde, wieder aktiv gemacht werden. Auch isoliertes E ist dies imstande. Wenn man komplementhaltiges Serum vorsichtig erwärmt, so daß es seine Funktion noch nicht ganz verloren hat, und dann stehen läßt, so gewinnt es einen beträchtlichen Teil seiner Funktion wieder. Was geschieht in diesem Fall? Die Vermehrung der Alkaleszenz infolge Wärmeinaktivierung wird durch den Alkaleszenzverlust beim Stehen ausgeglichen.

Getrocknetes Serum kann durch Auflösung mit destilliertem Wasser wieder seine Funktion erhalten. Hebt man durch Salzkonzentration die Komplementfunktion auf, so kann man sie nach Verdünnung — Herstellung der physiologischen Konzentration — wieder erhalten. Hat man z. B. Ca-, Ba-, Mg-Salze dazu genommen, so erscheint nach ihrer Ausfällung das Komplement wieder (Manwaring, Dungern, Coca, Noguchi).

Verdünt man komplementhaltiges Serum vorsichtig mit destilliertem Wasser, dann kommt es zu einer feinstflockigen Ausfällung von Globulinen: Die Komplementfunktion ist nun aufgehoben. Setzt man innerhalb kurzer Zeit — wenigen Minuten — Kochsalz hinzu, löst sich der Niederschlag auf und die Komplementfunktion tritt wieder in Erscheinung.

Nach Zusatz sehr verdünnter Säure oder Alkali ist die Komplementfunktion nicht nachweisbar. Durch Zusatz von Alkali bzw. Säure in verdünnter Form kann der frühere Zustand wiederhergestellt werden.

Schüttelinaktiviertes Serum kann oft durch hitzeinaktiviertes reaktiviert werden (Koshiwabara). Manchmal sowohl durch M als auch E (Ritz).

Durch ultraviolettes Licht inaktiviertes Serum (Kagawa) kann durch hitzeinaktiviertes wieder aktiv werden.

Aetherinaktivierung wirkt äußerst schädlich auf das Serum ein, so daß es weder durch M, noch durch E reaktiviert werden kann (Guggenheimer).

Die Konservierung der Komplementfunktion beruht vollkommen auf physikalischer Grundlage. Zusatz von NaCl (Friedberger) bewirkt Verhinderung der Ausflockung von Serumkolloiden (Globulinen). Aber nach 3 Wochen kommt es trotz der starken Salzkonzentration zu Flockung und irreversibler Inaktivierung. Der Konservierung mit Magnesiumsulfat (Silber) liegt dasselbe Prinzip zugrunde. Und Einfrieren im Frigo bedeutet ebenfalls Salzkonzentration: Im Röhrchen findet bei langsamem Einfrieren eine Schichtung statt, derart, daß sich im unteren Drittel fast alle Salze und Eiweißstoffe ansammeln, während im oberen Drittel fast reines Wasser zu finden ist. Und schließlich bedeutet auch der Zusatz von 10 Proz. Natriumazetat (Rhamy) und Konservierung durch Eintrocknen nichts anderes als Vermehrung der Salzkonzentration.

In diesem konservierten Zustand ist natürlich die Komplementfunktion inaktiviert und kann durch Verdünnung bis zur physiologischen Konzentration wieder zur Wirksamkeit gebracht werden.

Einen ähnlichen reversiblen Vorgang im Serum beschreibt Pekelharing. Im Serum entstehen beim Aufbewahren Stoffe, die der Gerinnung entgegenwirken, ohne das Enzym anzugreifen. Durch Alkali oder Säure werden diese Stoffe unwirksam gemacht, so daß das Enzym wieder wirken kann. Ebenso kann die bakterizide Eigenschaft bei den durch Erwärmen auf 56° inaktiv gewordenen Alexinen durch sehr verdünnte Kalilauge regeneriert werden (Emmerich).

Chemisches.

Die Komplementfunktion ist an das Serum gebunden, sowohl an den Eiweißanteil als auch an die Salzlösung (Elektrolyt). Von den einzelnen Komponenten der Komplementfunktion ist das Mittelstück eine Funktion

22*

der Globuline, das Endstück eine solche der Albumine und Lipoide. Ohne Elektrolyten ist eine Komplementfunktion undenkbar. Die merkwürdige Wirkungsweise des Komplementes, das erst nach seiner Wirkung, nach eingetretener Hämolyse schwindet, ließ an ein Ferment denken (Liefmann; Kiss; Bail und Suzuki und viele andere). Nach Höber ist ein Ferment ein Stoff, der, meist ohne sich merklich an der Reaktion zu beteiligen, d. h. ohne in eines der Endprodukte einzutreten, die Geschwindigkeit der Reaktion vergrößert (eventuell verkleinert). Also viel Ähnlichkeit mit der Komplementfunktion. Liebermann und Fenyvessy halten das Komplement für kein Ferment. Nach Bang wäre das Komplement höchstwahrscheinlich eine Säure, die ein Lipoidstoff ist, aber kein Eiweiß.

Interessante Aufschlüsse über die Molekulargröße des Komplementes erzielte Kabelik mittels Diffusionsversuchen. Er zeigte, daß die Komplementfunktion an bedeutend größere Kolloidpartikelchen gebunden ist, als sie der gewöhnlichen Dispersität des Serumeiweißes entsprechen. Das ist nach unseren Kenntnissen von der Zusammensetzung der Komplementfunktion aus mehreren Faktoren auch ohne weiteres verständlich. Erst die Zusammenfassung von mindestens einem Globulinmolekül, einem Albuminmolekül und einem Lipoidmolekül können in einer Salzlösung Komplementfunktion entfalten. Dieses Molekülaggregat ist natürlich größer als jedes einzelne der Moleküle. Seine lose Zusammensetzung ermöglicht auch z. B. durch bloßes Schütteln Inaktivierung, die in diesem Falle durch mechanische Auseinanderreißung der Molekularaggregate erfolgt.

Mit dieser Hypothese können wir uns manches bisher schwer Verständliche begreiflich machen. So die Tatsache, daß die einzelnen Komplementfaktoren verschiedener Tiersera einander ergänzen können. Oder die verschiedene Spezifität der Komplemente; sie ließe sich durch verschiedene Aggregatbildung der einzelnen Moleküle erklären. Ein Komplex von 2 Globulinmolekülen + 1 Albuminmolekül dürfte anders wirken als einer von 3 Globulinmolekülen + 2 Albuminmolekülen.

Physikalisch-chemische Deutung.

Was wird an der Struktur des Serums durch die Eingriffe, die ein Serum inaktivieren, geändert? Wenn einem Serum sehr verdünnte Säure oder Alkali zugesetzt wird, so kommt es zu mehr oder minder feiner Flockung der Kolloide; diese Flocken bestehen vorwiegend aus Eiweiß. Werden die so entstandenen Flocken durch Alkali bzw. Säure gelöst, erscheint die Komplementfunktion wieder.

Bei der Schüttelinaktivierung werden die Globuline ausgeschüttelt.

Zusatz von Aether oder Alkohol bewirkt eine Ausflockung der Kolloide durch Nonelektrolyte und Verdrängung des Salzes aus der Lösung.

Verdünnen mit destilliertem Wasser fällt die Globuline aus. Läßt man ein aktives Serum längere Zeit stehen, so bemerkt man Ausbildung einer Trübung, die mit der Zeit zunimmt und schließlich einen makroskopisch sichtbaren Bodensatz — aus Globulinen bestehend — liefert. Gleichzeitig nimmt die Alkaleszenz ab. Diese spontane Flockung von Kolloidlösungen ist bekannt (Hysteresis) und läßt sich auf verschiedene Weise beschleunigen (Erhöhung der Temperatur) oder verlangsamen (Schutzkolloide).

Beim hitzeinaktivierten Serum nimmt die Alkaleszenz zu. Die chemische Veränderung äußert sich in der Ausscheidung feiner, nadelförmiger Kristalle, die ich 1914 demonstriert habe. Sofort nach dem Herausnehmen aus dem Wasserbade kann man im Serum bei leichtem Schütteln — ohne Luftblasen zu erzeugen — feine, glänzende Kristallnadeln herumtanzen sehen. Am besten sieht man sie, wenn das Röhrchen in Halshöhe (des Beobachters) an die Tischlampe gehalten wird. Diese Kristalle sinken dann zu Boden und lassen sich mit einer feinen Pipette leicht herausholen. Mikroskopisch sieht man feine, längliche Nadeln und größere, flache, vielleicht rhombische Nadeln, die doppeltbrechend sind und sich in Alkohol lösen. Manchmal gelingt es, sie mit Sudan schwach zu färben. Vermutlich handelt es sich um Cholesterinkristalle. Diese Kristalle ließen sich im inaktivierten Serum vom Menschen, Pferd, Rind, Meerschweinchen und Schaf nachweisen. Sie halten sich am Grunde des Röhrchens mindestens 2 Wochen. Nur empfiehlt es sich, nicht weniger als 10 ccm Serum zu inaktivieren, wenn man sie deutlich sehen will.

Ueber die Ursache dieser Ausfällung kann nichts Bestimmtes gesagt werden. Möglicherweise handelt es sich um Abspaltung des labilen Cholesterins durch Erwärmung; die hydrophilen Kolloide nehmen Wasser auf, wodurch die Lösungsverhältnisse für andere labile Stoffe verändert werden.

Alle diese Eingriffe beeinträchtigen also das physikalisch-chemische Gleichgewicht des Serums, was sich außer an der Inaktivierung der Komplementfunktion an einer Verminderung

der Oberflächenspannung, Alkaleszenzänderung, ev. Aenderung der Leitfähigkeit u. dgl. zeigt. Es liegt nahe, anzunehmen, daß die Gesundheit des Organismus an ein gewisses Optimum des chemisch-physikalischen Zustandes gebunden ist. Jeder Eingriff, der diesen optimalen Zustand irgendwie ändert, wirkt als Krankheitsursache und ruft Abwehrreaktionen des Organismus hervor. Der Organismus wird sich bemühen, den physikalisch-chemischen Normalzustand so rasch als möglich wiederherzustellen. Es werden sich zu diesem Zwecke Vorgänge abspielen, die auch wieder physikalisch-chemischer Natur sind.

Nachstehend soll der Versuch gemacht werden, Schädigungen des Organismus, bei denen erfahrungsgemäß der Komplementgehalt des Serums in Mitleidenschaft gezogen wird, auf physikalisch-chemische Störungen zurückführen. Sollte es möglich sein, die Behebung dieser physikalisch-chemischen Störungen mittels einfacher, physikalisch wirkender Mittel durchzuführen, dann wäre damit ein Wahrscheinlichkeitsbeweis für die Richtigkeit unserer Theorie erbracht.

Das Fieber als Mittel, den geänderten physikalisch-chemischen Zustand des Serums wieder normal zu gestalten.

Die Temperatur spielt bei allen physikalisch-chemisch-kolloidalen Vorgängen eine wichtige Rolle. Erhöhung bewirkt eine Beschleunigung im Ablauf der Reaktionen, verursacht also Erhöhung der Oberflächenspannung und der Leitfähigkeit; Temperaturerniedrigung wirkt im entgegengesetzten Sinne. Der tierische und menschliche Organismus ist nun auf eine bestimmte Temperatur eingestellt. Temperaturschwankungen können durch Störungen im physikalischen Gleichgewicht des Organismus hervorgerufen werden. Andererseits können durch eine Temperaturänderung Störungen im physikalischen Gleichgewichte behoben werden. Diese Störungen z. B. in der Oberflächenspannung, Leitfähigkeit usw. rufen zuerst eine Temperaturerniedrigung hervor, auf die der Organismus mit einer — regulierenden — Temperaturerhöhung antwortet. Ich habe dies für das Reaktionsfieber (nach Arthigon) nachgewiesen: Je stärker das Reaktionsfieber, desto häufiger und größer der

vorangehende Temperatursturz. Physikalisch stelle ich mir vor, daß die in den Organismus in großer Menge plötzlich eingebrachten Bakterienleiber als Antigen wirkend mit den Antikörpern eine Aenderung im kolloidalen Zustand des Serums hervorrufen, die auch erkennbar ist an der Verminderung der Oberflächenspannung und — an der Komplementverminderung. Der Organismus stellt durch Temperaturerhöhung den optimalen physikalischen Zustand her. Wir wissen, daß Erniedrigung der Oberflächenspannung und Verminderung der Komplementfunktion die gleiche Ursache haben. Und sie können durch den gleichen Eingriff behoben werden: Lassen wir z. B. vor der Injektion den Kranken einige Löffel Kochsalz zu sich nehmen, so kommt es weder zum Temperaturabfall noch zum Reaktionsfieber, und die Komplementfunktion bleibt unverändert.

Den Zusammenhang zwischen Temperaturabfall und nachfolgendem Fieber merkt man besonders deutlich bei plötzlich eintretendem Schüttelfrost. Je länger das Kältegefühl dauert, je intensiver der Kranke den Frost empfindet, desto höher steigt nachher die Temperatur. Mißt man den Kranken während des Schüttelfrostes öfters, so kann man zuweilen Temperaturen unter 36° feststellen.

Viele Literaturangaben lassen sich in diesem Sinne verwerten.

Komplementbestimmungen bei Fiebernden wurden von Lüdke, Cori-Radnitz, Breton, Massol und Minet, Cathoire, Ssyrensky u. a. gemacht. Meist zeigte sich der Komplementgehalt gesteigert. Gutsche fand, wie schon erwähnt, beim Pferd den Komplementwert um so geringer, je niedriger die Temperatur war. Nach de Raadt hängt der Ausbruch des Schwarzwasserfiebers vom Komplementgehalt des Blutes ab. Ein niedriger Komplementgehalt schafft die Möglichkeit für eine ganz allmählich verlaufende Blutdissolution. Die Wirkung der den Anfall direkt auslösenden Momente (Abkühlung, Ueberanstrengung, Trauma und besonders Chinin) erklärt sich durch eine sozusagen explosionsartige Ueberproduktion von Komplement. Bei Malariakranken ist während des Fiebers und auch einige Zeit vor dem Ausbruche das Komplement vermindert (Sebastiani, Vincent). W. Loew fand es auffällig, daß in Sibirien zur Zeit der beiden Tiefstände des Komplementgehaltes — an Meer-schweinchen gemessen — die akuten Infektionskrankheiten epidemisch auftreten, die chronischen rezidivieren. Michele spricht es direkt aus, daß der Komplementgehalt des menschlichen Serums ein direktes Maß für die Widerstandsfähigkeit des Organismus sei.

Wenn wir mit Bezug auf das früher Gesagte die Komplementfunktion als eine der vielen Funktionen des Serums ansehen, so können wir sagen, daß eine Aenderung der Funktionen des Serums den Organismus krank macht; wir können das am leichtesten an Hand der Temperaturkurve feststellen. Der Organismus versucht aber stets automatisch, Abweichungen von seiner optimalen physikalisch-chemischen Beschaffenheit zu korrigieren, sei es durch Kochsalzretention (zur Verbesserung der Leitfähigkeit) oder durch Temperaturerhöhung (zur Verbesserung der Leitfähigkeit, Oberflächenspannung) u. dgl.

Die Widersprüche in den Resultaten verschiedener Autoren betreffend den Komplementgehalt des Serums beim Fieberkranken lassen sich leicht erklären. Es muß die Dauer des Fieberzustandes berücksichtigt werden. Bei akut einsetzendem Fieber (Reaktionsfieber, Malaria u. dgl.) ist die physikalische Wärmeregulierung für den Organismus vorteilhafter in dem Sinne, wie es vorhin angedeutet wurde. Bei chronischer Ueberwärmung ist die chemische Regulierung nützlicher (vgl. auch Plaut und Wilbrand).

Während es sich bei dem von mir nach Arthigoninjektionen beschriebenen und sogenannten anaphylaktoiden Temperaturabfall um eine rasch vorübergehende und leicht zu behebende Erscheinung handelt, zeigt sich der Temperatursturz bei der

Anaphylaxie

als ein lebensbedrohendes Symptom. Auch hierbei fällt ein bemerkenswerter Komplementschwund an (Sleeswijk, Friedberger, Löffler, Doerr, Busson).

Ueber die ursächliche Bedeutung des Komplementschwundes herrschen verschiedene Anschauungen. Löffler bezeichnet das Komplement als ausschlaggebenden Faktor für das Zustandekommen des anaphylaktischen Anfalls. Auch für Friedberger, Löffler spielt das Komplement eine ausschlaggebende Rolle. Widel, Abrami und Brissaud führen das Wesen der Anaphylaxie auf physikalische Grundlagen zurück; durch das artfremde Eiweiß wird eine Störung des kolloidalen Gleichgewichtes hervorgerufen. Schon 1912 hat Traube die Anaphylaxie auf eine physikalische Zustandsänderung des Serums zurückgeführt. Auf Veränderungen der physikalischen Beschaffenheit des Serums beziehen auch Sachs und Nathan die Anaphylaxie. Paul Schmidt faßt die Giftsubstanzen als

leicht adsorbierbare, labile Portionen der Globuline auf, die aus elektrisch negativ geladenen Kolloiden bestehen. Nach Bordet beruht die Anaphylaxie auf Adsorption durch den Antigen-Antikörperkomplex.

Temperatursturz und Verminderung der Komplementfunktion veranlaßten mich, die Oberflächenspannung im Serum von Meerschweinchen im anaphylaktischen Shock zu untersuchen. Sie war vermindert im Vergleich zu den Werten, die das vor der Reinjektion entnommene Blut aufwies. Da die intravenöse Zufuhr von konzentrierter Kochsalzlösung den Ausbruch der Anaphylaxiesymptome sowohl bei aktiver als auch bei passiver Anaphylaxie mit absoluter Sicherheit verhütet, liegt es nahe, eine physikalische Ursache für das Zustandekommen des anaphylaktischen Shocks anzunehmen. Die Aehnlichkeit mit der dem Reaktionsfieber vorausgehenden Temperatursenkung, Komplement- und Oberflächenspannungsverminderung ist nicht von der Hand zu weisen. Der anaphylaktische Shock stellt demnach nichts anderes dar, als die erste Phase nach der (Arthigon-) Injektion, nur durch die Wucht der plötzlichen Wirkung in so vermehrter und vervielfachter Wirksamkeit, daß der Organismus sich nicht mehr erholen kann. Einen so plötzlichen Temperatursturz von mehreren Graden kann der Organismus nicht sofort ausgleichen: das physikalische Optimum bleibt zu lange gestört, so daß inzwischen der Tod eintritt. Kommt es aber doch zur Erholung vom Shock, dann tritt die zweite Phase in Erscheinung — das Reaktionsfieber. Je tiefer die Temperatursenkung war, desto höher ist dann das lebensrettende Fieber, das den physikalischen Defekt ausgleicht, bis der Organismus wieder ins Gleichgewicht gekommen ist. Die shockverhütende Wirkung der konzentrierten Salzlösung ist wie beim Reaktionsfieber eine rein physikalische. Der Komplementschwund beim anaphylaktischen Shock ist also nicht die Ursache der Anaphylaxie, sondern eine koordinierte Begleiterscheinung wie der Temperatursturz und die Oberflächenspannungsverminderung. Allen diesen Erscheinungen liegt eine gemeinsame Ursache zugrunde — das plötzlich gestörte physikalisch-chemische Gleichgewicht.

Zu dieser Anschauung paßt auch ein Versuch von Lumière und Courturier. Sie injizierten sensibilisierten Meerschweinchen 0,5 ccm Baryumsulfataufschwemmung; die 30 Sekunden hernach verabfolgte sonst tödliche Serumdosis war von nur geringen Erscheinungen gefolgt. Eine Minute nach der ersten Baryumsulfatinjektion wurde die zehnfach konzentrierte Lösung vertragen, deren Schutzwirkung 24 Stunden anhielt.

Narkose und Komplementfunktion.

Nach Overton kommt es zur Narkose, wenn die Zellipoide den narkotisierenden Stoff bis zu einer gewissen molekularen Konzentration in sich aufgenommen haben. Dies tritt um so rascher ein, je besser sich das Narkoticum in den Lipoiden löst im Verhältnis zu seiner Wasserlöslichkeit. Da narkotische Wirkung und Teilungskoeffizient (Meyer) einander parallel gehen, spielt auch die Temperatur eine wichtige Rolle. M. Verworn faßt die Narkose als Erstickungsvorgang auf: die Narkotica wirken verlangsamernd und hemmend auf die in den Zentralnervenzellen sich abspielenden Oxydationsvorgänge. Traube bringt die Narkose in engen Zusammenhang mit der Oberflächenspannung: ein Stoff wirkt im allgemeinen um so narkotischer, je mehr er die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigt.

Physikalisch-chemische Untersuchungen über den Einfluß der Narkotica liegen nur spärlich vor. Oliva stellte fest, daß bei Aethernarkose Viskosität, Gefrierpunkt, spezifisches Gewicht, refraktometrischer Index und elektrische Leitfähigkeit zunehmen. Vale behauptet wieder, daß sich die Leitfähigkeit nicht ändere. Nach meinen Untersuchungen wird durch Narkotica die Oberflächenspannung erniedrigt, die Leitfähigkeit im allgemeinen nicht geändert (Billrothmischung). Dagegen leidet die Komplementfunktion ganz bedeutend mit der Tiefe und Länge der Narkose. Denn vergleichende Untersuchungen über Komplementgehalt vor und am Ende der Narkose zeigen, daß sich eine starke Verminderung der Komplementfunktion nach der Narkose einstellt. Gleichzeitig nimmt die Oberflächenspannung ab und die Temperatur sinkt. Alles dies sind Zeichen des gestörten physikalischen Gleichgewichtes.

Nach der hier vertretenen Anschauung müßte es möglich sein, durch entgegengesetzt wirkende Beeinflussung des physikalischen Zustandes die Störungen der Narkose zu beheben. Diesbezügliche Versuche — an Tieren — zeigten, daß intravenöse Injektion hypertotonischer Kochsalzlösung den Eintritt der Narkose verzögert. Wird einem narkotisierten Tier die Kochsalzlösung im Zustand tiefer Narkose verabreicht, dann erwacht es früher als das Kontrolltier.

Man sollte demnach in der Lage sein, die Nachwirkungen der Narkose durch Infusion von Kochsalzlösung in ihrer Dauer abzukürzen, ja vielleicht sogar zu beheben.

.

Der

Rausch

ist eine Vorstufe der Narkose. Serumuntersuchungen an Alkoholikern sind anscheinend selten gemacht worden.

Manioloﬀ findet bei chronischem Alkoholismus das Komplement vermindert. Es ist dies auch wahrscheinlich, wenn man die dielektrische Natur des Alkohols in Betracht zieht. Bei Alkoholvergiftung konnten Abbot und Bergey Komplementverminderung feststellen.

Die Volksmedizin hat instinktiv und seit altersher das richtige Mittel angewandt, um das durch den Alkoholgenuß gestörte physikalische Gleichgewicht des Organismus wiederherzustellen: man gibt gegen Katzenjammer einen Salzhering. Die Kochsalzmenge, die damit dem Organismus einverleibt wird, stellt Leitfähigkeit und Oberflächenspannung und damit das Wohlbefinden wieder her. Die Analogie mit der Wirkung des Kochsalzes beim Reaktionsfieber, der Anaphylaxie, der Narkose ist zu auffällig, um nur dem Zufall zugeschrieben werden zu können. Alle diese pathologischen Zustände haben ihre Ursache in physikalischen Zustandsänderungen des Serums. Und physikalisch wirkende Mittel können den Normalzustand wiederherstellen.

Die Beweiskette über die physikalisch-chemische Natur der Komplementfunktion kann aber erst dann als endgültig geschlossen gelten, wenn es gelänge, die Komplementfunktion künstlich zu erzeugen.

Dieser Mühe hat uns Liebermann enthoben, dem es in zwei Jahrzehnte langer Arbeit gelungen ist,

künstliches Komplement

herzustellen. Es handelt sich hierbei um eine Kombination von Seifen oder seifenartigen Verbindungen mit bestimmten Eiweißarten, insbesondere Globulinen und Kalksalzen. Dieses künstliche Komplement wird durch Hitze inaktiviert wie das natürliche. Es kann als Ersatz des natürlichen zur Komplementbindung bei der Rotzdiagnose und der Wassermannschen Reaktion benützt werden.

Dem Ersatze des Meerschweinchenserums durch dieses künstliche Komplement steht vorläufig noch die Schwierigkeit in der Herstellung im Wege. Aber das Problem des künstlichen Komplements kann als gelöst betrachtet werden: eine komplizierte biologische Funktion des lebenden Serums läßt sich im Laboratorium künstlich mittels unbelebter Stoffe nachahmen.

Zusammenfassung.

Die Komplementfunktion ist an einen ganz bestimmten physikalisch-kolloidchemischen Zustand des Serums geknüpft. Dieser Zustand findet seinen Ausdruck in einer Reihe von Eigenschaften, wie Oberflächenspannung, Leitfähigkeit, Viskosität, Dispersion u. dgl. Die Komplementfunktion tritt nur bei einer gewissen Teilchengröße der Kolloide und Vorhandensein von Elektrolyten in Erscheinung. Jede bedeutendere Aenderung der Teilchengröße oder der Elektrolyten setzt die Komplementfunktion außer Wirksamkeit (inaktiver Zustand). Die Wirksamkeit kann, da es sich bei diesen Aenderungen meist um reversible Vorgänge handelt, wiederhergestellt werden, und zwar um so sicherer, je geringer die Abweichung vom normalen, optimalen Zustand ist und je rascher die Reaktivierung einsetzt. Sind die Aenderungen in der Dispersität bedeutend und dauert diese Zustandsänderung länger an, dann wird der aktive Zustand irreversibel: die Komplementfunktion bleibt dauernd aufgehoben. Alle Inaktivierungsarten sind mit einer Störung des chemisch-physikalischen Gleichgewichts verknüpft. Alle Konservierungsverfahren beruhen auf einer reversiblen Aenderung bloß des physikalischen Zustandes; die kolloidchemische Komponente der Komplementfunktion ist sehr labil.

Die Komplementfunktion tritt nur bei Zusammenwirken mehrerer Faktoren in Erscheinung, von denen das Globulin-kolloid (Mittelstück), das Albumin + Lipoidkolloid (Endstück) und der Elektrolyt (Kochsalz und Kalziumchlorid), die am besten gekannten sind. Aenderung im physikalisch-chemischen Zustand eines dieser Faktoren inaktiviert die gesamte Komplementfunktion.

Die kleinste Einheit der Komplementfunktion stellt ein Mehrfaches der Eiweißmoleküle dar.

Biologische Vorgänge, wie Fieber, Anaphylaxie, Narkose, Rausch, die von einer Aenderung der Komplementfunktion begleitet sind, lassen sich letzten Endes auf eine Störung des physikalisch-chemischen Gleichgewichtes im Serum zurückführen und bilden damit den Beweis für die Richtigkeit der Annahme, daß die Komplementfunktion nur dem Zusammen-

wirken physikalisch-chemischer Faktoren entspringt. Die experimentelle Zusammenfügung dieser Faktoren zu künstlichem Komplement (Liebermann) ist eine weitere Bestätigung dieser Theorie.

Literatur.

- Abbot und Bergey, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 34, 1904.
 Abelin und Stiner, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 19, Heft 1.
 Bail und Suzuki, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 8, Heft 5/6.
 Bang, Ivar, *Chemie und Biochemie der Lipoiden*. Wiesbaden, J. F. Bergmann, 1911.
 Bessemanns, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 19, Heft 4.
 Breton, Massol und Minet, *Compt. rend. de la Soc. de Biol.*, T. 67, 1909, No. 34.
 Bronfenbrenner und Noguchi, *Journ. of exp. Med.*, Vol. 15.
 Busson, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 70, Heft 7, S. 416.
 — und Takahashi, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 65, S. 146.
 Cathoire, *Compt. rend. de la Soc. de Biol.*, T. 67, No. 36.
 Chatellier, *Bull. de la Soc. franç. de dermat. et de syph.*, Année 29, 1922, No. 1.
 Courmont und Dufourt, *Compt. rend. de la Soc. de Biol.*, T. 72, p. 916.
 Doerr, *Arch. f. exper. Path. u. Pharm.*, Bd. 77, 1914.
 Emmerich, *München. med. Wochenschr.*, 1914, S. 2343.
 Friedberger, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1914, S. 1403.
 — und Hartoch, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 3, Heft 6.
 — und Kumagai, *Ebenda*, B. 19, Heft 4.
 — und Putter, *Ebenda*, Bd. 30, H. 3/4.
 — und Salecker, *Ebenda*, Bd. 11, S. 574.
 Friedemann, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 67, 1910, S. 279.
 Guggenheimer, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 8, S. 295.
 —, *Ebenda*, Bd. 11, S. 393.
 Gutsche, *Berl. tierärztl. Wochenschr.*, 1918, S. 14.
 Georgi, W., *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 29, S. 92.
 Hecht, *Prager med. Wochenschr.*, 1914, No. 25.
 —, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 24, 1915, Heft 3.
 —, *Zeitschr. f. klin. Medizin*, Bd. 82, 1916, Heft 3/4.
 Henderson-Smith, *Brit. med. Journ.*, Vol. 2, p. 1443.
 Hirschfeld und Klinger, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 21, No. 1/5.
 —, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1914, S. 1173.
 Höber, *Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe*. W. Engelmann, 1904.
 Kabelík, *Česká Dermatologie*, Bd. 3, H. 8/9.
 Kashiwabara, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 17, Heft 1.
 Kisch und Remertz, *Intern. Zeitschr. f. Biol.*, Bd. 1, 1914, S. 354.
 Kodama, *Japan med. World*, Bd. 1, 1921, No. 7.
 Landsteiner und Rock, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 14, S. 14.

- Leschke, Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther., Bd. 15, H. 1.
 Leschly, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 25, 1916.
 —, Ebenda, Bd. 24, S. 499.
 Liebermann, Jahresbericht über Immunitätsforschung, 1911.
 —, München. med. Wochenschr., 1917, S. 1462.
 —, Med. Klin., 1921, No. 21.
 —, Ebenda, 1921, No. 40, S. 1218.
 —, Dtsch. med. Wochenschr., 1921, No. 43.
 — und Fenyvessy, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, Heft 3/4.
 Löffler, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, Heft 1.
 Liefmann, Centralbl. f. Bakt., Bd. 50, Beiheft.
 —, Jahresber. f. Immunitätsf., Bd. 8, 1912.
 —, München. med. Wochenschr. 1913, S. 1614.
 — und Kohn, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, Heft 2.
 Lumière et Courturier, Compt. rend. hebd. de Soc. de l'Acad. d. Sc.,
 T. 172, 1921, No. 5.
 Manioloﬀ, Centralbl. f. Bakt., Bd. 73, H. 5/6.
 Marks, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, S. 590; Bd. 11, S. 18.
 Much, zit. bei Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 46, S. 441.
 Madsen und Watabiki, Ebenda, Bd. 65, Heft 3/4.
 Noguchi und Bronfenbrenner, Journ. of exper. Med., Vol. 13, p. 229.
 Omorokow, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, S. 185.
 Pekelharing, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 85, S. 341.
 Plaut und Eberhard Wilbrand, Zeitschr. f. Biol., Bd. 74, 1922, S. 191.
 Predtetschensky, Jahresbericht für Immunitätsforschung, Bd. 7, S. 446.
 Ritchie and M'Gowan, Journ. of Path. and Bact., Vol. 16, p. 147.
 Ritz, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 13, S. 62; Bd. 15, Heft 2/3.
 Rondoni, La Clin. Med. Ital., 1911, S. 395.
 Sachs, H., La Semaine méd., 1908, 24/6.
 —, Berlin. klin. Wochenschr., 1916, No. 52.
 —, Arch. f. Hyg., Bd. 89, 1920, S. 322.
 — und Altmann, Berlin. klin. Wochenschr., 1908, Nr. 4.
 — —, Biochem. Zeitschr., Bd. 78, 1916.
 — und Bolkowska, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, S. 788.
 — und Nathan, Berlin. klin. Wochenschr., 1914, S. 1169.
 — und Omorokow, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, S. 710.
 — und Terruchi, Berlin. klin. Wochenschr., 1907, No. 16/19.
 Scheller, Centralbl. f. Bakt., Bd. 56, Heft 2.
 Schmidt, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31, No. 2.
 —, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 83, 1917, Heft 1.
 — und Liebers, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 19, H. 4.
 Silber, München. med. Wochenschr., 1913, No. 43.
 Sivori, Ann. Ist. Maragliano, T. VI, p. 259.
 Sleeswijk, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5, Heft 5.
 Ssyrensky, Wratsch Gaz., 1912, No. 16.
 Thiele und Embleton, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, H. 1/2.

- Thomsen und Leschly, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, S. 216.
Tissot, Compt. rend. Acad. de Sc., T. 158, 1914.
Traube, Biochem. Zeitschr., Bd. 10, 1908.
—, München. med. Wochenschr., 1912, S. 1025.
—, Dtsch. med. Wochenschr., 1913, No. 39.
—, München. med. Wochenschr., 1914, No. 31.
—, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, S. 267.
Tsuru, Ebenda S. 612.
Vale, G., Arch. di fisiol., Vol. 11, 1913, p. 535.
Weil und Dufourt, Compt. rend. Soc. de Biol., T. 74, 1913, p. 802.
Weil, E., Biochem. Zeitschr., Bd. 65, S. 332.
Widal, Abrami und Brissaud, Sem. méd., 1913, No. 52.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald
(Direktor: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Der Einfluß der Temperaturerhöhungen auf die Oberflächenspannung bei verschiedenen Bakterienarten.

Von Dr. M. Tinti.

Mit 10 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. August 1922.)

Mit Hilfe des Traubeschen Stalagmometers ausgeführte Untersuchungen von Gildemeister haben ergeben, daß die Oberflächenspannung von Bakterienaufschwemmungen unter dem Einfluß erhöhter Temperaturen bestimmte Abänderungen erfahren kann, die zwar nicht einheitlicher Natur sind, aber bei gewissen Gruppen von Bakterien einen charakteristischen Verlauf erkennen lassen. So ergab sich für Typhusbazillen bei Erwärmung auf 80° eine mehr oder minder große Zunahme der Oberflächenspannung, beim Uebergang zu noch höheren Temperaturen ein schnelles Absinken derselben. Aehnlich, aber nicht völlig gleichartig verhielten sich Paratyphusbazillen, Vibrionen und Pyocyaneus, letzterer mit dem Unterschiede, daß die Zunahme der Oberflächenspannung schon bei 60° eintrat. Ein deutlich abweichendes Bild bot die Aenderung der Oberflächenspannung bei Friedländer-Bazillen: zunächst Abnahme bei Erwärmung auf 80°, sodann Zunahme

bei 100°; schließlich bei weiterer Erwärmung Wiederabnahme. Dagegen zeigten zwei Stämme von *Proteus* X 19 bei Erwärmung eine kontinuierliche Verminderung der Oberflächenspannung ohne vorübergehende Zunahme. Bei Ruhr- und Coli-Bazillen sowie bei Staphylokokken ließ sich schließlich keine oder nur eine sehr geringe Aenderung der Oberflächenspannung bei Erwärmung auf 100° erzielen, während die über 100° hinausgehende Erwärmung von Coli-Aufschwemmungen zu einer beträchtlichen Abnahme der Oberflächenspannung führte.

Diese Aenderungen der Oberflächenspannung bringt Gildemeister in Zusammenhang mit den von einer Reihe Autoren bereits beschriebenen Zustandsänderungen von Bakterienaufschwemmungen, namentlich solchen von Typhusbazillen. Diese letzteren sollen bei Erwärmen auf 80° eine zähflüssige, schleimige Beschaffenheit annehmen, bei weiterer Erwärmung dagegen wieder dünnflüssig werden. Parallel damit geht, wie Porges zuerst nachwies, eine Aenderung der Agglutinabilität, derart, daß bei den auf 80° erhitzten Bazillen die Agglutination herabgesetzt ist oder völlig ausbleibt, um bei weiterer Erwärmung wiederhergestellt zu werden.

Dieser Befund ist von einer Reihe anderer Autoren wie Eisenberg, Jobling, Hirschfeld und H. Sachs an Paratyphus-, Ruhr- und Cholerabakterien, sowie im Prinzip auch an *Proteus*stämmen bestätigt worden und hat zu der Vorstellung geführt, daß es bei Erhöhung der Temperatur zu einer Abspaltung agglutinationshemmender Substanzen aus dem Bakterienleib kommt, die bei weiterer Erwärmung abgebaut werden. Erwähnt sei noch, daß auch die Säureagglutination von Typhusbazillen hinsichtlich der Beeinflussung durch erhöhte Temperaturen ein ähnliches Verhalten aufweist.

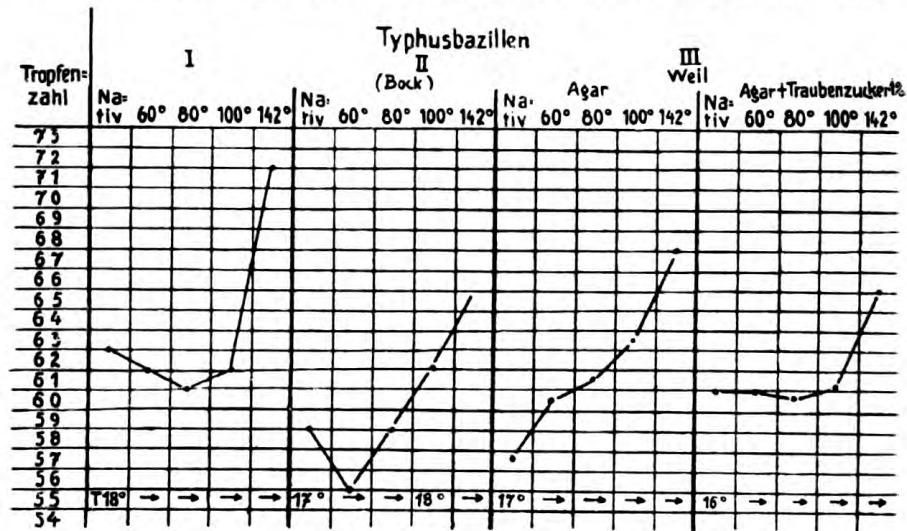
Bei der Wichtigkeit der Frage der vermuteten Zusammenhänge der Oberflächenspannung mit dem Agglutinationsphänomen habe ich auf Veranlassung von Herrn Prof. Friedberger die Gildemeisterschen Untersuchungen zunächst einer Nachprüfung unterzogen. Die Messung der Oberflächenspannung erfolgte wie bei Gildemeister mittels der stalagmometrischen Methode. Das von mir benutzte Stalagmometer ergab für destilliertes Wasser bei 22° 52 Tropfen. — Von den zu untersuchenden Bakterien wurden Agar-Platten-

kulturen angelegt, die nach 16- bis 20-stündiger Bebrütung mit je 6 ccm destillierten Wassers abgeschwemmt wurden. Dadurch ließen sich besonders dichte Aufschwemmungen erzielen, jedenfalls dichter, als dies bei Verwendung von Schrägagarkulturen möglich ist. Um den etwaigen Einfluß des Nährbodens zu prüfen, wurden dem Agar gelegentlich bestimmte Zusätze gemacht.

Die so erhaltenen Bakterienaufschwemmungen wurden in ein Kölbchen gegossen, darauf auf 5 Reagenzröhrchen verteilt, von denen das eine unerhitzt blieb und von den übrigen je eins auf 60, 80, 100 und 142° eine Stunde lang erwärmt wurde. Die Erwärmung auf 60–100° geschah im Wasserbad, die auf 142° im Autoklaven bei 3½ Atmosphären Ueberdruck. Während der Erwärmung waren die Röhrchen durch Korkstopfen verschlossen. Nach dem Wiederabkühlen auf Zimmertemperatur und 2-stündigem Stehenlassen zwecks Absetzens der größeren Partikel wurde der Inhalt der Röhrchen in das Stalagmometer eingefüllt und mit der Tropfenzählung begonnen. Die Anzahl der Tropfen betrug bei den nativen Aufschwemmungen 15–17 pro Minute und konnte durch Anwendung einer Klemmvorrichtung noch weiter — auf etwa 10–12 — herabgesetzt werden. Der absolute Wert der Oberflächenspannung ist somit größer als in den Versuchen Gildemeisters, dessen Aufschwemmungen unter den gleichen Bedingungen 20 Tropfen pro Minute ergaben. Dies hängt wohl mit der größeren Dichtigkeit der von mir benutzten Bakterienaufschwemmungen zusammen.

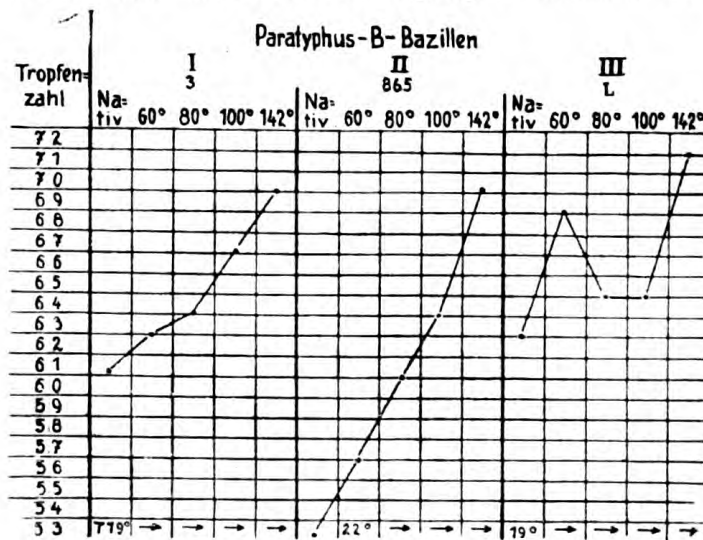
Was zunächst meine Befunde an Typhusbazillenaufschwemmungen anbetrifft, so kann, wie ein Blick auf Kurve 1 lehrt, von einem einheitlichen Verlauf der Oberflächenspannungsänderung nicht gesprochen werden. Bei den Stämmen I und II kommt es bei Erhöhung der Temperatur zu einer Verminderung der Tropfenzahl und dementsprechend zu einer Erhöhung der Oberflächenspannung. Jedoch beginnt diese Zunahme schon bei 60°, um bei Erwärmung auf 80° entweder noch größer zu werden (I) oder schon bei dieser Temperatur in eine Verminderung der Oberflächenspannung überzugehen (II). Die erhaltenen Ausschläge von 1–3 Tropfen (gegenüber bis zu 3 Tropfen bei Gildemeister) sind jedoch sehr gering und

liegen hart an der Fehlergrenze. Bei den übrigen von mir untersuchten Typhusstämmen konnte nur eine Abnahme der



Kurve 1.

Oberflächenspannung konstatiert werden, die entweder sogleich eintrat oder sich erst beim Uebergang zu höheren Tempera-



Kurve 2.

turen bemerkbar machte. Die letztere Verlaufsart ergab sich bei vorheriger Züchtung auf Traubenzuckeragar, so daß hierin

vielleicht ein Einfluß des Nährbodens erblickt werden kann (z. B. Stamm III). Daß endlich die Resultate bei ein- und demselben Stamm auch unter den gleichen Bedingungen keine konstanten zu sein brauchen, zeigten zwei entsprechende Versuche an Stamm I.

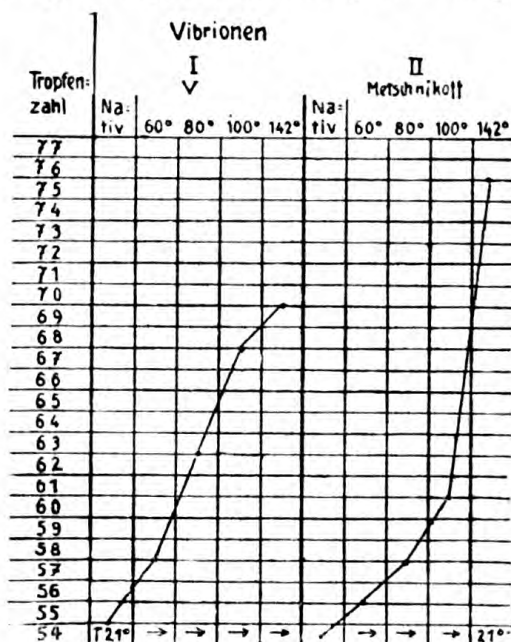
Die Versuche an Paratyphus B-Bazillen (Kurve 2) ließen mit einer Ausnahme von Stamm III eine kontinuierliche Erniedrigung der Oberflächenspannung bei Erhöhung der Temperatur erkennen. Stamm

III zeigt bei Erwärmung auf 60° eine deutliche Abnahme, bei 80° eine Zunahme, schließlich jenseits 100° wieder eine Abnahme der Oberflächenspannung. Bei Wiederholung des Versuchs ergab sich jedoch auch hier ein kontinuierliches Sinken der Oberflächenspannung. Ein dem zwar nicht regelmäßigen, aber häufigen Befunde Gildemeisters entsprechender Verlauf —

annähernd Konstanz bis 60°, Zunahme bei 80°, Wiederabnahme bei 100° — kam in keinem der angestellten Versuche zum Ausdruck.

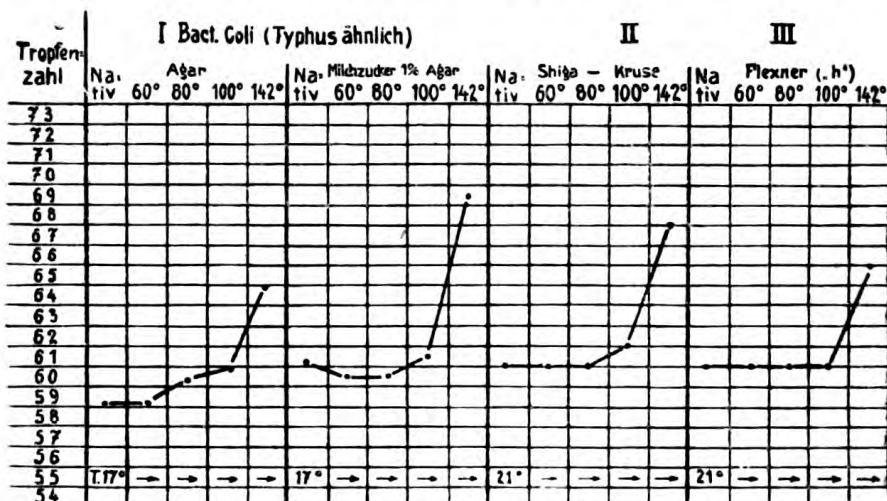
Ein gegenüber den Gildemeisterschen Angaben völlig verschiedenes Verhalten zeigte sich bei Erwärmung von Aufschwemmungen einiger Vibrionenarten (Kurve 3). Hier ließ sich lediglich ein kontinuierliches Absinken der Oberflächenspannung konstatieren.

In guter Uebereinstimmung mit Gildemeister standen jedoch die Versuche an Coli-, Ruhrbazillen und Staphylokokken (Kurve 4 und 5): Relativ geringe Beeinflussung der Oberflächenspannung bei Erwärmung bis 100°, sehr schnelle Ab-



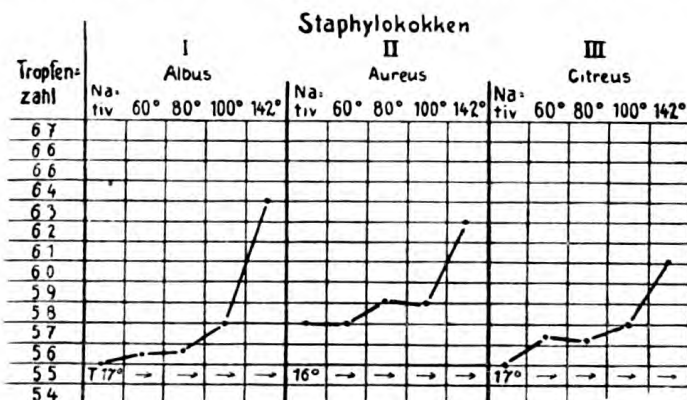
Kurve 3.

nahme derselben bei 142°, und zwar nicht nur bei Coli-, sondern auch bei Ruhrbazillen und Staphylokokken. Einige



Kurve 4.

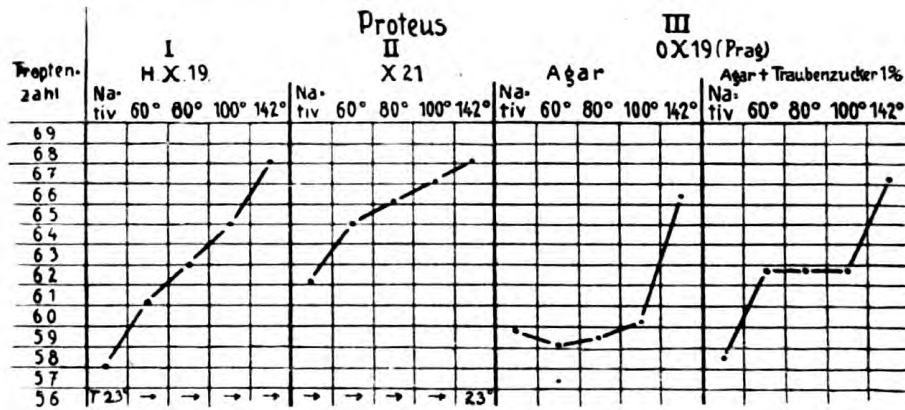
der untersuchten Coli-Stämme zeigten ein mehr kontinuierliches, langsames Absinken der Oberflächenspannung. Eine allmähliche Abnahme ließ auch Staph. citreus erkennen.



Kurve 5.

Einen wenig charakteristischen Verlauf zeigte die Aenderung der Oberflächenspannung bei einer Reihe von Proteusstämmen (Kurve 6). Bei H 19, X 21 haben wir kontinuierliche Verminderung; bei OX 19 bestand im allgemeinen rela-

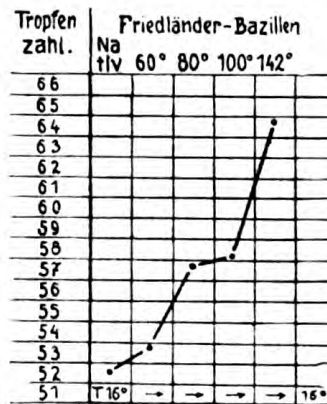
tive Konstanz der Oberflächenspannung bis 100°, bei Erwärmung auf 142° starkes Absinken.



Kurve 6.

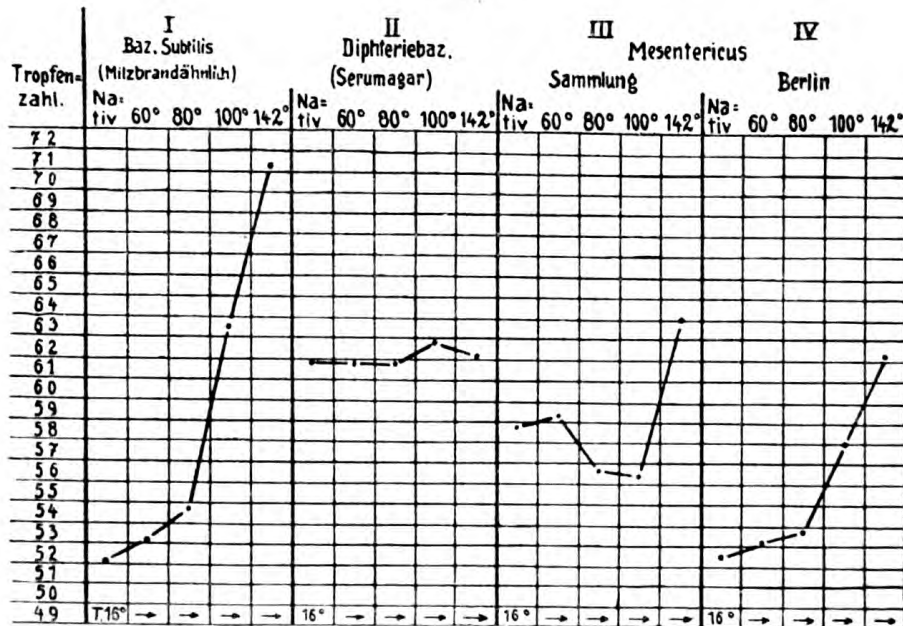
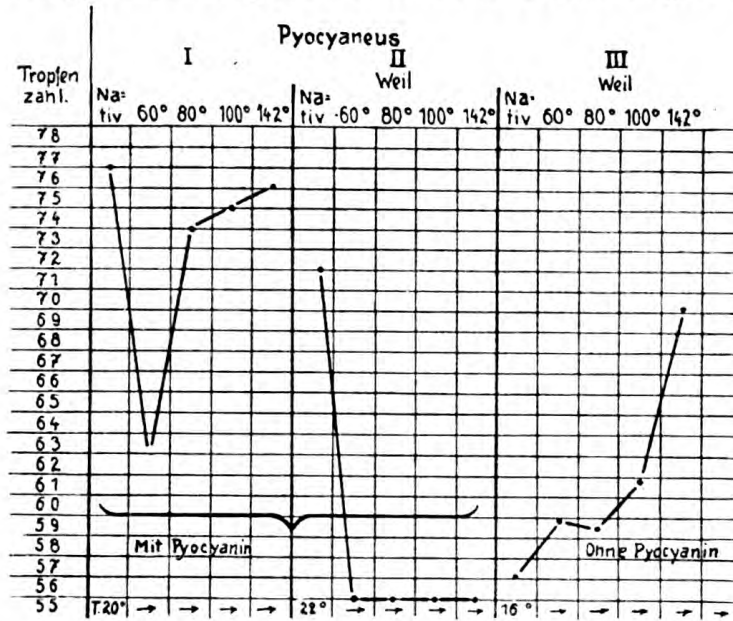
Der von Gildemeister bei Friedländer-Bazillen erhobene Befund — erst Abnahme bei 80°, dann Zunahme bei 100°, schließlich wieder Abnahme der Oberflächenspannung — konnte von mir nicht bestätigt werden. 3 daraufhin untersuchte Stämme ergaben ein stetiges, mehr oder minder steiles Absinken der Oberflächenspannung (als Beispiel Kurve 7).

Zu einem interessanten Ergebnis führten die Versuche mit *Bacillus pyocyaneus* (Kurve 8). Von 5 untersuchten Stämmen erwiesen sich 3 als pyocyaninbildend. Diese ergaben eine sehr starke Erhöhung der Oberflächenspannung bereits bei 60°, entsprechend dem Gildemeisterschen Resultat. Allerdings sank die Oberflächenspannung in 2 Fällen bei 80° ebenso schnell wieder herab (z. B. Stamm I), während sie bei dem 3. Stamm konstant blieb (Stamm II). Zwei andere Stämme, welche kein Pyocyanin bildeten, zeigten teils eine kontinuierliche, teils eine erst bei 142° merklich hervortretende Erniedrigung der Oberflächenspannung (Stamm III).



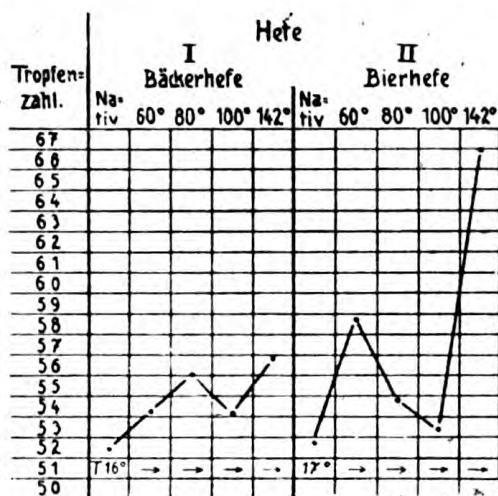
Kurve 7.

Von den sonst noch untersuchten Bakterien ergab *Bacillus subtilis* eine stetig fortschreitende Abnahme der Oberflächenspannung, während Diphtheriebazillenaufschwemmungen so gut



wie gar nicht beeinflußt wurden. *Bacillus mesentericus* zeigte teils eine geringe Zunahme der Oberflächenspannung bei 80° und 100° mit darauffolgender Abnahme, teils ein kontinuierliches Sinken ohne vorübergehende Zunahme (Kurve 9).

Schließlich sei noch das Ergebnis zweier Versuche an Aufschwemmungen von Hefezellen mitgeteilt: Bei Bierhefe deutliche Abnahme der Oberflächenspannung bei Erwärmung auf 60°; bei 80 und 100° wieder Zunahme, bei 142° steiles Absinken; bei Bäckerhefe geringe Abnahme der Oberflächenspannung bis 80°, bei 100° geringe Zunahme, darauf Wiederabnahme (Kurve 10).



Kurve 10.

Bemerkt sei noch, daß die grampositiven Bakterien (*Staphylokokken*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis*, *Diphtheriebazillen*, Hefezellen) gegenüber den gramnegativen keine Besonderheiten ergeben haben.

Einige weitere Versuche sollten dann noch die Frage entscheiden, ob bei Zusatz eines agglutinierenden Antiserums zu einer Bakterienaufschwemmung eine Änderung der Oberflächenspannung zu konstatieren sei. Die Konzentration des zugefügten Antiserums betrug das 10-fache des Titerwertes. Die

Versuche mit Typhusbazillen.

| Zusatz zur Aufschwemmung | I Tropfen-zahl | | II Tropfen-zahl | |
|--------------------------|--|--|--|--|
| | Aufschwemmung in: | | Aufschwemmung in: | |
| | Aqua dest. | 8% NaCl-Lös. | Aqua dest. | 8% NaCl-Lös. |
| — | 53—52 ¹⁹ / ₂₁ | 55—54 ¹⁸ / ₂₀ | 55—54 ²⁰ / ₂₁ | 56 ⁸ / ₂₀ —56 ⁸ / ₂₀ |
| Typhus - Immunserum | 53 ³ / ₂₁ —53 | 55 ¹⁵ / ₂₀ —55 ¹⁰ / ₂₀ | 54 ¹⁶ / ₂₁ —54 ¹⁸ / ₂₁ | 56 ¹⁴ / ₂₀ —56 ¹² / ₂₀ |
| Normal - Kaininchenser. | 53 ⁷ / ₂₁ —53 ⁵ / ₂₁ | 55 ⁷ / ₂₀ —55 ⁴ / ₂₀ | 54 ¹⁴ / ₂₁ —54 ¹⁷ / ₂₁ | 56 ¹⁰ / ₂₀ —56 ⁸ / ₂₀ |

Versuche mit OX 19-Bazillen.

| Zusatz zur Auf- schwemmung | I Tropfenzahl | | II Tropfenzahl | |
|----------------------------------|--|--|--|--|
| | Aufschwemmung in: | | Aufschwemmung in: | |
| | 8°/100 NaCl-Lös. | Aqua dest. | 8°/100 NaCl-Lös. | Aqua dest. |
| — | 55 ¹⁶ / ₂₀ —55 ¹⁷ / ₂₀ | 54 ¹³ / ₂₁ —54 ¹⁵ / ₂₁ | 55 ⁷ / ₂₀ —55 ² / ₂₀ | 54 ¹⁷ / ₂₁ —54 ¹⁷ / ₂₁ |
| Antiserum | 55 ⁸ / ₂₀ —55 ⁸ / ₂₀ | 54 ¹³ / ₂₁ —54 ¹⁷ / ₂₁ | 55 ⁹ / ₂₀ —55 ⁸ / ₂₀ | 54 ¹⁸ / ₂₁ —54 ¹⁸ / ₂₁ |
| Normal - Ka- ninchen-ser. | 55 ⁶ / ₂₀ —55 ⁷ / ₂₀ | 54 ⁸ / ₂₁ —54 ⁵ / ₂₁ | 55 ⁵ / ₂₀ —55 ⁶ / ₂₀ | 54 ¹⁸ / ₂₁ —54 ¹⁹ / ₂₁ |

Versuche, welche an OX 19- und Typhusbazillen angestellt wurden, ergaben, wie die vorstehenden Tabellen zeigen, weder auf Zusatz von Normalkaninchen serum noch von Antiserum eine merkliche Aenderung der Oberflächenspannung.

Zusammenfassung.

1) Die von Gildemeister bei Erwärmung von Typhusbazillenaufschwemmungen gefundene charakteristische Aenderung der Oberflächenspannung — Zunahme bei 80°, Wiederabnahme bei 100° — konnte nur bei einem Teil der untersuchten Stämme bestätigt werden. Die erhaltenen Unterschiede sind jedoch auch hier zu gering, um sichere Schlußfolgerungen zu gestatten. Im übrigen ist der Befund bei ein und demselben Stamm keineswegs konstant.

2) Aufschwemmungen von Paratyphus B-Bazillen zeigen bei Erwärmen im allgemeinen eine stetig fortschreitende Abnahme der Oberflächenspannung. Der von Gildemeister auch hier beschriebene charakteristische Verlauf ließ sich bei unseren Stämmen nicht konstatieren.

3) Denselben Befund ergaben Aufschwemmungen von Vibrionen.

4) Die Oberflächenspannung von Coli-, Ruhrbazillen- und Staphylokokkenaufschwemmungen wird bei Erwärmen bis zu 100° meist gar nicht, seltener im Sinne eines kontinuierlichen Absinkens beeinflußt. Jenseits 100° tritt regelmäßig eine starke Verminderung der Oberflächenspannung ein.

5) Die untersuchten Proteusstämmen ergaben bei Erwärmen eine Erniedrigung der Oberflächenspannung, die teils kontinuierlich erfolgt, teils erst bei 142° stärker in Erscheinung tritt.

6) Friedländer-Bazillen zeigen ein stetiges Absinken der Oberflächenspannung.

7) Die Befunde an *Bacillus pyocyaneus* stimmten, falls Bildung von Pyocyanin erfolgte, mit den Gildemeister'schen Resultaten überein. Anderenfalls ergaben sich Abweichungen.

8) Die Oberflächenspannung von Diphtheriebazillenaufschwemmungen wird bei Erwärmen so gut wie gar nicht, von Subtilisaufschwemmungen im Sinne einer kontinuierlichen Abnahme beeinflusst, während sich *Bacillus mesentericus* verschieden verhält.

9) Aufschwemmungen von Bierhefe zeigen beim Erwärmen erst Abnahme, alsdann Zunahme, schließlich steiles Absinken der Oberflächenspannung. Weniger deutlich ist dies bei Bäckerhefe.

10) Der Zusatz eines agglutinierenden Immunserums zu OX 19- und Typhusbazillenaufschwemmungen hatte keinen nachweisbaren Einfluß auf deren Oberflächenspannung.

Literatur.

- Gildemeister, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 83, 1919, S. 497.
— und Günther, Ebenda, Bd. 83, 1919, S. 391.
Eisenberg, Ebenda, Bd. 41, 1906, S. 823.
Hirschfeld, Arch. f. Hyg., Bd. 60, 1907, S. 298.
Jobling, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 53, 1906, S. 554.
Porges, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther., Bd. 1, 1905, S. 621, und
Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 40, 1906, S. 133.
Sachs, Dtsch. med. Wochenschr., 1917, S. 964.
Traube, Berlin. klin. Wochenschr., 1911, S. 418.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Impfstoffinstitut Križevci S.H.S..]

Ueber Reaktionen nach der Immunisierung von Pferden mit Schweinerotlauf-Bouillonkulturen.Von Tierarzt Dr. **Andreas Hupbauer.**

Mit 2 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 22. August 1922.)

Für die Rotlaufserumgewinnung werden bekanntlich hauptsächlich Pferde herangezogen. Jedes Seruminstitut geht dabei nach einem dort erprobten Verfahren vor. In bestimmten Zeiträumen werden den Tieren steigende Mengen von Rotlaufbouillonkulturen subkutan oder intravenös eingespritzt, bis die Tiere ein entsprechend hochwertiges Rotlaufserum liefern. — Zahl und Dosis der Injektionen, die für die Erzeugung ausreichender Mengen von Antikörpern notwendig sind, unterliegen individuellen Schwankungen.

Im Impfstoffinstitute Križevci wird die Rotlaufimmunisierung in der Regel mit der intravenösen Injektion von 50 bis 100 ccm einer gut entwickelten 36—48stündigen Rotlaufkultur begonnen. Diese Dosis wird dann in Intervallen von 8—10 Tagen gesteigert, bis das Serum einen entsprechenden Schutz- oder Heilwert erreicht hatte.

Nachstehend führe ich einen Fall an, der deshalb interessant ist, weil das Serumpferd (Schimmel, Wallach, bei acht Jahre alt, gut genährt, 153 cm hoch, bosnischer Schlag) un-

| Tag der Infusion | Injektionsdosis der Rotlaufkultur | Reaktion |
|------------------------------------|-----------------------------------|----------|
| 30. Januar | 100 ccm | 0 |
| 5. Februar | 250 „ | ++ |
| 11. Februar | 400 „ | +++ |
| 19. Februar | 550 „ | +++ |
| 27. Febr. Blutentnahme u. Infusion | 450 „ | + |

+ = kaum merkbare Reaktion, ++ = mittelstarke Reaktion, +++ = starke Reaktion (Dyspnoe, Schweißausbruch usw.).

gewöhnlich hohe Steigerungen der Injektionsdosis vertragen hat, und nach verhältnismäßig kurzer Zeit ein brauchbares Serum geliefert hat. — Zu bemerken ist, daß zur Immunisierung stets dieselbe Bouillon verwendet worden ist, die aus Pferdefleisch bereitet und längere Zeit vorrätig gehalten worden war.

Das bei der ersten Blutentnahme gewonnene Serum schützte bei einer Maus in der Menge von 0,015 subkutan appliziert, gegen eine 24 Stunden später vorgenommene intraperitoneale Infektion mit 0,01 ccm einer 36stündigen Rotlaufbouillonkultur, welche eine Kontrollmaus in 48 Stunden tötete.

Das Pferd lieferte demnach schon nach 27tägiger Behandlung mit 1,350 ccm Rotlaufbouillonkultur ein gutes Immunsérum. Das Tier war eines der besten Serumtiere des Institutes und lieferte später ein Serum, das noch in der Dosis von 0,005 ccm eine Maus gegen die künstliche Infektion mit 0,01 ccm virulenter Rotlaufkultur schützte.

Im Jahre 1920, speziell im Jahre 1921, kamen in unserem Institute nach Infusionen von Rotlaufbouillonkulturen außergewöhnlich starke Reaktionen zur Beobachtung, von denen einzelne sogar zum Tode führten. Auch hochimmunisierte Tiere fingen nach den Infusionen an zu zittern und schwer zu atmen. In kürzester Zeit waren sie wie in Schweiß gebadet, das Herz arbeitete beschleunigt, der Puls war unregelmäßig, oftmals kaum zu fühlen, die Körpertemperatur der Tiere stieg öfter mehrmals um 1° C. Es kam auch vor, daß solche Pferde zusammenstürzten und längere Zeit matt am Boden liegen blieben. Fast jedesmal waren Darmkrämpfe zu beobachten, die erst nach wiederholtem Absetzen von dünnbreiigem Mist nachließen. Die Tiere verweigerten manchmal auf die Dauer eines Tages die Futteraufnahme. Ein Pferd, das im Anfang der Immunisierung gestanden ist, ist so etwa 10 Minuten nach der Kulturinfusion zusammengestürzt und unter starken Krämpfen binnen einigen Minuten umgestanden. Ein andermal stürzten nach der Infusion von je 100, 150 und 300 ccm Rotlaufkulturen drei Pferde zusammen. Eines (100 ccm) stand nach etwa 8 Stunden um, das zweite (150 ccm) erholte sich nach 10, das dritte (300 ccm) nach 1½ Stunden wieder vollständig.

Durch die von Gerlach veröffentlichten Beobachtungen über infektiöse Anämie bei Serumpferden, welche diese Krankheit als Geißel der Seruminstitute kennzeichneten, wurde nun in unserem Institute die Aufmerksamkeit auf diese Krankheit gelenkt, doch war sie bei keinem der Institutspferde festzustellen.

Auffallend war, daß bei den vorerwähnten drei Unfällen alle geimpften Pferde ungewöhnlich stark reagiert hatten.

Für diese Infusion waren die bis dahin in Verwendung gestandenen vier Immunisierungsstämme des Instituts verwendet worden. Die zunächst angestellten Reinheitsproben hatten die Reinheit der injizierten Rotlaufstämme ergeben. Deshalb war der Gedanke naheliegend, daß die Ursache dieser starken Reaktionen in der vor dieser Infusion frisch hergestellten Bouillon zu suchen war. Die Nachforschungen über die Provenienz des zur Bouillonbereitung dienenden Fleisches haben dann auch ergeben, daß es sich um Rindfleisch gehandelt hat. Ich vermutete daher, daß als Ursache dieser starken Reaktionen die Verwendung von Rindfleischbouillon anzusehen ist.

Der von Gerlach in der Gesellschaft der Tierärzte in Wien gehaltene Vortrag „Ueber Serumkrankheit bei Rind und Pferd“ bestärkte mich noch mehr in der Ueberzeugung, daß es sich bei den geschilderten Unfällen um Reaktionen gehandelt hat, die durch die parenterale Einverleibung von heterologem Eiweiß, in unserem Falle von erhitztem Rinder-eiweiß, zustande gekommen sind. Um mich von der Richtigkeit dieser Vermutung zu überzeugen, ging ich von folgenden Erwägungen aus: Wie reagieren Pferde auf Einbringung von 1) Pferdefleisch- oder Pferdeblutkuchenbouillonkulturen und 2) Rindfleischbouillonkulturen?

Bei diesen Versuchen wurden solange Bouillonkulturen infundiert, bis die Tiere sichtlich reagierten, d. h. Unruhe, Schweratmigkeit usw. zeigten. Infundiert wurde in allen Versuchen eine gut entwickelte, 36—48 Stunden alte Rotlaufbouillonkultur, deren Reinheit vorher bakteriologisch festgestellt worden war.

Unmittelbar vor der Impfung sind alle vier Immunisierungsstämme gemischt worden, so daß alle Tiere die gleiche Kultur erhielten.

Die Versuche wurden bei zwei Pferden und einem Maultier durchgeführt.

Versuch I. 22. II. 1922.

Zur Infusion gelangt eine Pferdefleischbouillon mit $\frac{1}{5}$ -proz. Peptonzusatz.

1) Rotlaufserumpferd „Schimmel“, Stute, Nährzustand mittelgut, bei 12 Jahre alt. Als Serumpferd seit Juni 1921 in Verwendung.

Infundiert werden 250 ccm intravenös in 10 Min. Das Pferd fängt an zu schwitzen, Atmung etwas beschleunigt, costoabdominal. Kolik. In den Stall gebracht entleert das Tier reichlich Mist, legt sich alsbald nieder. Zu Mittag nimmt das Pferd das Futter wohl etwas langsamer auf als sonst.

2) Rotlaufserumpferd „Rapp“, Wallach, bei 13 Jahre alt, in sehr gutem Nährzustande. Eingestellt seit November 1919.

Infundiert werden 250 ccm in 10 Min. Das Tier bekommt Darmkrämpfe, zieht sich zusammen, entleert breiigen Mist. Atmung erschwert und beschleunigt. Im Stall legt sich das Pferd sofort nieder und bleibt bis zur Mittagsfütterung liegen. Zu Mittag frißt das Pferd wie gewöhnlich. Sichtliche Reaktionsdauer etwa $\frac{1}{2}$ Stunde.

3) Rotlaufserumtier „Siva“, Maultierwallach, bei 9 Jahre alt, in sehr gutem Nährzustand. Das Tier ist zur Serumgewinnung seit 1. Juni 1918 eingestellt. Gegen Infusion von Bouillonkulturen ziemlich unempfindlich.

Infundiert wurden in 12 Min. 250 ccm. Das Tier fängt an etwas schwerer und beschleunigter zu atmen. Etwas Schweißausbruch und Zittern. Reaktionsdauer etwa $\frac{1}{4}$ Stunde.

Versuch II. 18. III. 1922.

Infundiert wird Bouillon aus Rindfleisch ohne Peptonzusatz.

1) „Schimmel“. Infundiert werden 60 ccm in 8 Min. Das Tier fängt an schwer zu atmen, zittert, stöhnt und setzt öfter breiigen Mist ab. In den Stall gebracht, wirft sich das Pferd nieder, bleibt am Boden liegen und schwitzt sehr stark. Futteraufnahme erst abends.

2) „Rapp“. Infundiert werden 135 ccm Rotlaufbouillonkultur in 8–9 Min. Das Tier wird unruhig, stöhnt und zieht sich unter Krampfbewegungen zusammen. Die Atmung wird sehr angestrengt, starkes Nüster- und Flankenschlagen, Puls beschleunigt, drahtförmig. Absatz von breiigem Mist. Haut- und Körpertemperatur erhöht. In den Stall gebracht, legt sich das Pferd sofort nieder, steht wieder auf, drängt mit dem Kopf an die Mauer, starker Schweißausbruch. Nach etwa 15 Min. beginnt das Tier am ganzen Körper zu zittern. Die Reaktionserscheinungen waren so stark, daß das Tier mit Wasser begossen werden mußte und am Kopfe kalte Umschläge erhielt. Diese stürmischen Erscheinungen ließen nach etwa $\frac{1}{2}$ Stunde nach, doch blieb das Tier den ganzen Tag über sehr matt.

3) „Siva“. 100 ccm Kultur intravenös. Das Tier beginnt alsbald schwer zu atmen, schwitzt und zeigt Kolikerscheinungen. Puls beschleunigt.

Versuch III,

mit Bouillon hergestellt aus Pferdeblutkuchen ohne Zutat von Pepton. Es wurde auch hier eine gut entwickelte 36stündige Rotlaufkultur infundiert.

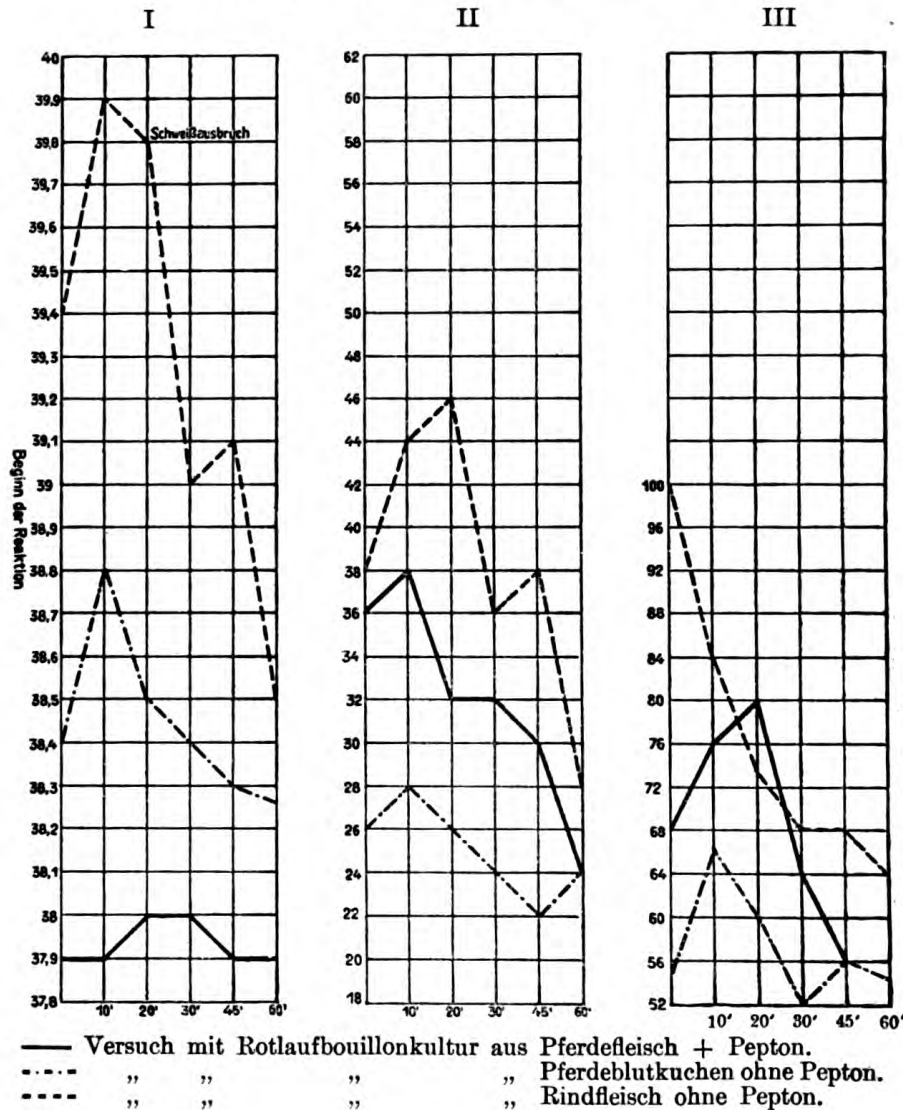
| Vor der Infusion | | | |
|------------------|------------|--------|------|
| Versuch | Temperatur | Atmung | Puls |
| I | 37,9 | 24 | 52 |
| II | 37,8 | 20 | 50 |
| III | 38,3 | 20—22 | 48 |

Kurve I zeigt die Temperaturen während der Reaktion.
Kurve II gibt die Zahl der Atmung in der Minute an.
Kurve III gibt die Zahl des Pulses in der Minute an.



2) „Rapp“. Infundiert wurden 500 ccm in 16 Min. Bei der Menge von 400 ccm wurde das Tier ein wenig unruhig. Nach kurzer Unterbrechung konnten dann anstandslos insgesamt 500 ccm infundiert werden. Das Tier verhielt sich ruhig, entleerte nur reichlich Mist. Im Stall keine Erscheinungen. Zu Mittag erfolgte normale Futteraufnahme.

| Vor der Infusion | | | |
|------------------|------------|--------|-------|
| Versuch | Temperatur | Atmung | Puls |
| I | 37,7 | 22 | 48 |
| II | 38,1 | 24 | 56 |
| III | 38,0 | 20 | 50—52 |



3) „Siva“. Infundiert wurden 400 ccm in 18 Min. Das Tier zeigte keine sichtliche Reaktion.

| Vor der Infusion | | | | 10 Min. nach der Infusion | | |
|------------------|-------|--------|------|---------------------------|--------|-------|
| Versuch | Temp. | Atmung | Puls | Temp. | Atmung | Puls |
| I | 38,1 | 18 | 44 | 38,4 | 28 | 72 |
| II | 38,0 | 20 | 54 | 38,8 | 28—32 | 84—92 |
| III | 38,2 | 22 | 50 | 38,4 | 26 | 64 |

Seither wird in unserem Institute nur mehr Bouillon aus Pferdeblutkuchen für die Immunisierung der Pferde verwendet, ohne daß ähnliche Reaktionen, wie die geschilderten, zu verzeichnen sind.

Gelegentlich einer Immunisierung im Mai v. J. ereignete es sich abermals, daß alle Pferde außerordentlich heftig reagierten, so daß wir das Pferd „Rapp“ fast verloren. Es konnte in diesem Falle einwandfrei erhoben werden, daß der Laborant in Ermangelung von Pferdeblutkuchenbouillon eine vorrätige Bouillon aus Rindfleisch für die Immunisierungskulturen geliefert hatte.

Gut geeignet hat sich mir eine Verdauungsbouillon aus Pferdeblutkuchen (1:2) erwiesen, die man sogar auf das 4–6fache verdünnen kann, ohne daß das Wachstum der Rotlaufbazillen beeinträchtigt wird.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die parenterale Einverleibung von Rinderbouillon (erhitztes Rindereiweiß) gelegentlich der Immunisierungen von Serumpferden heftige Reaktionen hervorzurufen imstande ist. Daß die beschriebenen heftigen Erscheinungen nur darauf zurückzuführen sind, erscheint dadurch bekräftigt, daß in allen drei Versuchen alle in Betracht kommenden Faktoren (Virulenz, Alter der Kultur usw.), mit Ausnahme des Ausgangsmaterials der Bouillon, dieselben geblieben sind.

Daß nicht die Menge der Bakterien als Ursache dieser Reaktionen anzusprechen ist, ergibt sich aus den Versuchen I und III, wo die heftigsten Reaktionen hätten ausgelöst werden müssen, da hier die größten Bakterienmengen infundiert worden sind. Die prodromalen Erscheinungen decken sich im großen

und ganzen mit den von vielen Autoren beschriebenen Symptomen nach parenteraler Einbringung heterologer Antigene.

So berichtet z. B. Kaznellson über „Praktische Protein-körpertherapie“, daß bei Menschen zuweilen nach Einverleibung fremdartigen Eiweißes Brechreiz, Fieber, Schüttelfrost, Diarrhöe usw. als unangenehme Nebenerscheinungen beobachtet werden. Die von mir beobachteten Reaktionen nach Injektion von Rindfleischbouillon sind ähnlich jenen, wie sie Gerlach bei Rindern und Pferden beschrieben hat, denen artfremdes Serum injiziert worden war. Zittern, vermehrter Kot — und Harnabsatz.

Auf Grund dieser Beobachtungen erscheint es angebracht, zur Immunisierung von Serumtieren nur solche Bouillon für die Herstellung der Impfkulturen zu verwenden, die aus homologem Eiweiß (Pferdefleisch, noch besser Pferdeblutkuchen) bei Pferden bereitet worden ist.

Zusammenfassung.

1) Bei jungen, kräftigen Pferden kann die Immunisierung gegen Schweinerotlauf mit verhältnismäßig hohen Dosen begonnen und durch schnelle Steigerung der Infusionsmenge in kurzer Zeit ein entsprechend hochwertiges Serum gewonnen werden.

2) Pferde reagieren auf die Infusion von Bouillonkulturen, die aus Rindfleischbouillon hergestellt wurden, mit heftigen Reaktionen. Diese Reaktionen scheinen auf die parenterale Einverleibung von fremdarten Eiweiß (hier erhitztes Rinder-eiweiß) zurückzuführen zu sein.

3) Zur Herstellung von Bouillonkulturen, die zu Immunisierungen von Pferden verwendet werden, nehme man Bouillon, die aus Pferdefleisch oder Pferdeblutkuchen hergestellt wurde.

Sehr gut bewährt sich zur Immunisierung gegen Schweinerotlauf eine Bouillon aus Pferdeblutkuchen ohne irgendwelche Zutat.

[Aus der II. med. Klinik in Wien.]

Untersuchungen über Eiweiß und Lipoid mit Hilfe der Saponinhämolyse.

Von O. Ehrentheil und W. Weis-Ostborn.

(Eingegangen bei der Redaktion am 22. August 1922.)

Luger, Weis-Ostborn und Ehrentheil haben in der in Band 36 Heft 1 dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit über die Beeinflussung der Saponinhämolyse durch Sera Karzinomatöser und durch Lecithin berichtet. Durch die Ergebnisse dieser Untersuchungen war es unwahrscheinlich geworden, daß das Cholesterin der einzig maßgebende Faktor für die Hemmung der Saponinhämolyse im menschlichen Serum sei; diese Vermutung wurde durch die Befunde der Sera Gravidar bekräftigt.

Die Versuchsanordnung war kurz folgende:

Es wurde 10fach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünntes inaktiviertes Serum fortlaufend mit physiolog. Kochsalzlösung 2fach verdünnt (1:10, 1:20 usw.). Zu jedem Röhrchen kamen ferner 1 ccm 1:4000 bzw. 1:8000 Saponinlösung und $\frac{1}{2}$ ccm einer 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung. Die in manchen Versuchen verwendete Cholesterinemulsion wurde auf folgende Weise hergestellt: 0,5 g Cholesterin wurde in Aether gelöst; das in Aether gelöste Cholesterin hierauf tropfenweise zu 250 ccm heißer Kochsalzlösung zugesetzt und der Aether auf dem Wasserbade vertrieben. Auf diese Weise wurde eine trübe, 2-promill. Cholesterinemulsion erhalten, mit welcher dann die Versuche angestellt wurden. Im übrigen wurde unter denselben Kautelen, wie in der früheren Arbeit ausgeführt wurde, gearbeitet.

Es ist seit den Untersuchungen von Chauffard, Hermann und Neumann und Huffmann bekannt, daß das Serum Gravidar cholesterin- bzw. lipoidreicher als das Normalserum ist, und zwar enthält nach den Untersuchungen von Huffmann die Schwangerschaft einen durchschnittlichen Wert von 2,3 gegenüber dem Normalserum, das nach Chauffard, Laroche und Grigaut einen Wert von 1,5—1,8, nach Widal, Weill und Laudat einen Wert von 1,7—1,9, nach Henes einen solchen von 1,4 pro Liter Serum hat. Da, wie seit den Untersuchungen von Ransom bekannt ist, das

Cholesterin die Saponinhämolyse hemmt, so war zu erwarten, daß das Serum Gravidar eine stärkere antihämolytische Wirkung ausübe als das Serum Nicht-Gravidar. Die meisten Sera Gravidar verhielten sich in diesem Sinne; einige wenige jedoch zeigten eine geringere Hemmung als das mitaufgestellte Normalserum. Die Zahl der speziell daraufhin untersuchten Schwangerschaftssera, die alle von Gravidar im 10. Lunarmonat stammten, beträgt 41¹⁾, von denen 10 Sera eine mehr oder minder deutlich sichtbare geringere Hemmung gegenüber den mitaufgestellten Normalseris aufwiesen. Dieses Verhalten war in einigen Fällen im Verlaufe des ganzen Versuches deutlich zu erkennen, d. h. sowohl bei der Ablesung nach $\frac{1}{2}$ als nach 2 und 15 Stunden; bei manchen trat sie nur bei der Ablesung nach $\frac{1}{2}$ bzw. nach 2 Stunden auf, während nach 15-stündiger Einwirkung des Saponins die Hemmungen der Schwangerschaftssera wieder hervortraten. Es wäre also zu erwarten gewesen, daß diese weniger hemmenden Sera einen niedrigeren Cholesteringehalt als die mitaufgestellten Vergleichssera aufwiesen. Die speziell bei diesen Seris angestellten Cholesterinbestimmungen nach Kumagawa-Suto zeigten aber dennoch einen erhöhten Cholesteringehalt gegenüber dem stärker hemmenden Normalserum. Es steht also dieser obzwar nur bei einem Viertel der Fälle erhobene Befund bei Seris Gravidar im Gegensatz zu der bisherigen Anschauung, daß die Hemmung der Saponinhämolyse durch das Serum lediglich von seinem Cholesteringehalt abhängt. Im folgenden seien einige Befunde samt den bei diesen Seris angestellten Cholesterinwerten mitgeteilt:

In den folgenden Protokollen bedeutet +++ komplette Hemmung, — komplette Lysis, die anderen Zeichen Zwischenstufen.

Versuch I.

Protokoll I. Pat. Br. Diagnose: Schwangerschaft, Cholesterinbestimmung 2,8 g.

In jeder Epruvette befinden sich 1 ccm Saponin 1:4000, 1 ccm Serumverdünnung und $\frac{1}{2}$ ccm 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung.

1). Für die lebenswürdige Ueberlassung dieser Sera sei an dieser Stelle Herrn Prof. Kermauner gedankt.

| Serum- ver- dünnung | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | Se.-K. | Sap.-K. |
|---------------------------|------|------------------|------|------------------|-------|--------|---------|
| $\frac{1}{2}^b$ | +++ | +++ | +++ | fast noch +++ | ++ | +++ | + |
| 2^b | +++ | zw. ++ u. +++ | + | — | — | +++ | — |
| 15^b | +++ | zw. ++ u. +++ | — | — | — | +++ | — |

Inhalt der Eprouvetten wie oben, nur ist die Saponinverdünnung 1:8000.

| Serum- verdünnung | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 | 1:640 | 1:1280 | 1:2560 | 1:5120 | Sap.-K. |
|----------------------|------|------|------|------------------|------------------|--------|----------------|----------------|------------------|------------------|------------------|
| $\frac{1}{2}^b$ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | fast noch +++ | fast noch +++ | fast noch +++ |
| 2^b | +++ | +++ | +++ | +++ | zw. ++ u. +++ | ++ | zw. + u. ++ | zw. + u. ++ | + | + | zw. + u. ++ |
| 15^b | +++ | +++ | +++ | zw. ++ u. +++ | zw. + u. ++ | fast — | — | — | — | — | — |

Protokoll II. Pat. Sp. Diagnose: Aortitis luica. Cholesterinbestimmung 2,2 g.

Inhalt der Eprouvetten analog dem Protokoll I. Saponin 1:4000.

| Serum- ver- dünnung | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | Se.-K. | Sap.-K. |
|---------------------------|------|------|----------------|------------------|-------|--------|---------------|
| $\frac{1}{2}^b$ | +++ | +++ | +++ | fast noch +++ | ++ | +++ | zw. + u. — |
| 2^b | +++ | +++ | zw. + u. ++ | — | — | +++ | — |
| 15^b | +++ | + | — | — | — | +++ | — |

Inhalt der Eprouvetten wie oben, nur ist die Saponinverdünnung 1:8000.

| Serum- verdünnung | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 | 1:160 | 1:320 | 1:640 | 1:1280 | 1:2560 | 1:5120 | Sap.-K. |
|----------------------|------|------|------|------------------|------------------|------------------|-------|----------------|------------------|------------------|------------------|
| $\frac{1}{2}^b$ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | fast noch +++ | fast noch +++ | fast noch +++ |
| 2^b | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | zw. ++ u. +++ | ++ | zw. + u. ++ | + | zw. + u. — | zw. + u. — |
| 15^b | +++ | +++ | +++ | fast noch +++ | zw. ++ u. +++ | zw. + u. — | — | — | — | — | — |

Wie ersichtlich, war in diesem Versuche das Schwangerschaftsserum dem Serum einer Aortitis luetica trotz höheren Cholesteringehaltes des ersteren bei der Ablesung nach 2 Stunden sowohl in der Reihe 1:4000 wie 1:8000 deutlich in der Lysis voraus, ebenso noch in der Reihe Saponin 1:8000 bei der Ablesung nach 15 Stunden, während in der Reihe Saponin 1:4000 das Schwangerschaftsserum bereits zurückgeblieben war.

Versuch II.

Protokoll III. Pat. Ge. Diagnose: Schwangerschaft, Cholesterinbestimmung 2,4 g.

Inhalt der Eprouvetten analog dem Protokoll I. Saponin 1:4000.

| | | | | | | Se.-K | Sap.-K |
|-----------------|-----|------------------|------------------|---------------|----------------|-------|--------|
| $\frac{1}{2}^h$ | +++ | +++ | +++ | ++ | zw. + u. ++ | +++ | + |
| 2^h | +++ | +++ | zw. ++ u. +++ | zw. + u. — | zw. + u. — | +++ | — |
| 15^h | +++ | fast noch +++ | + | — | — | +++ | — |

Protokoll IV. Pat. Hs. Diagnose: Lues latens. Cholesterinbestimmung 2,0 g.

Inhalt der Eprouvetten analog dem Protokoll I. Saponin 1:4000.

| | | | | | | Se.-K. | Sap.-K. |
|-----------------|-----|-----|-----|------------------|------------------|--------|---------|
| $\frac{1}{2}^h$ | +++ | +++ | +++ | fast noch +++ | zw. ++ u. +++ | +++ | + |
| 2^h | +++ | +++ | +++ | ++ | + | +++ | — |
| 15^h | +++ | +++ | ++ | — | — | +++ | — |

In Versuch II verlief die Reaktion insofern etwas anders, als hier der raschere Ablauf der Hämolyse bei der Schwangerschaft in allen Reihen der Saponinverdünnung 1:4000 sehr deutlich, in der Verdünnung 1:8000 nicht deutlich sichtbar war.

In ähnlicher Weise wie bereits in der oben zitierten Arbeit studierten wir auch das Verhalten der Sera Gravidar nach Aetherausschüttelung. Es zeigte sich zuerst in Uebereinstimmung mit den früheren Versuchen ein vollständiges Wegfallen der Hemmung des ausgeschüttelten Serums. Da es nach den Angaben der Literatur (Tudichum, S. Fränkel) bekannt ist, daß durch Aether nicht alle Lipoiden aus dem Serum entfernt werden, so machten wir vor allem Cholesterinbestimmungen im ausgeschüttelten Serum, weil wir uns die

Frage vorlegten, ob nicht im ausgeschüttelten Serum der Schwangerschaft durch Aether nicht extrahierbares, auf die Saponinhämolyse unwirksames Cholesterin in größerer Menge vorhanden wäre als beim Normalserum, wodurch die geringere Hemmung trotz erhöhten Cholesteringehaltes erklärt würde. Tatsächlich gelang es in einem mit Aether ausgeschüttelten Serum, das nunmehr keinerlei Hemmung der Saponinhämolyse zeigte, durch neuerliche Cholesterinbestimmung nach K u m a g a w a - S u t o einen geringgradigen Cholesteringehalt im Serum der Schwangerschaft nachzuweisen, was uns beim Normalserum nicht gelang. Es scheint also möglicherweise im Serum Schwangerer etwas mehr mit Aether nicht extrahierbares und als solches für die Saponinhämolyse unwirksames Cholesterin enthalten zu sein als im Normalserum. Diese Differenz ist aber viel zu gering, als daß sie als alleinige Ursache für die teilweise Aufhebung der Hemmung der Saponinhämolyse bei den Seris Gravidar in betracht käme, da der gesamte Cholesteringehalt dieser Sera um ein bedeutendes höher ist als der der Normalsera. Tatsächlich zeigte auch die aus dem Aetherextrakt des Schwangerschaftsserum hergestellte Lipoidaufschwemmung eine stärkere Hemmung der Saponinhämolyse als die analog gewonnene Aufschwemmung des Normalserums. Zur Verdeutlichung dieser Angabe sei folgendes mitgeteilt: Die Lipoidaufschwemmungen wurden folgendermaßen hergestellt: 20 ccm 10fach verdünntes Serum wurde 2mal je 10 und 8mal je 5 Minuten mit Aether ausgeschüttelt, der Aether eingedampft, hierauf der Rückstand durch eine geringe Menge Aether neuerdings gelöst und der das konzentrierte Lipoid enthaltende Aether tropfenweise zu 20 ccm warmer physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt. Auf diese Weise entstand eine trübe Emulsion, aus der im Wasserbade die letzten Spuren Aether vertrieben wurden. So erhielten wir Lipoidaufschwemmungen, die das Lipoid ungefähr in derselben Konzentration enthielten wie ein 10fach verdünntes, nicht ausgeschütteltes Serum. Die Lipoidaufschwemmungen sowohl des Schwangerschaftsserums wie des Normalserums wurden nun in Reihen fallend verdünnt (1:10, 1:20, 1:40 usw.) derartig aufgestellt, daß in jede Eprouvete 1 ccm der verdünnten Lipoidaufschwemmung, 1 ccm Saponinverdünnung 1:4000 bzw.

1 : 8000 und 0,5 ccm 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung kamen.

Die Lipoidaufschwemmung der Schwangerschaft zeigte in allen Reihen eine stärkere antihämolysische Wirkung als die Lipoidaufschwemmung des Normalserums.

Wir versuchten weiter, ob wir die ursprünglichen Verhältnisse durch Wiedervereinigung der ausgeschüttelten Sera mit den aus ihnen gewonnenen Lipoidaufschwemmungen herstellen könnten. Diese Versuche fielen insofern negativ aus, als das mit seinem Lipoid wiedervereinigte Schwangerschaftsserum jetzt stärker hemmte als das entsprechend behandelte Normalserum.

Wir mußten nun die Frage aufwerfen, ob dieses merkwürdige Verhalten einiger Schwangerschaftssera durch eine Veränderung des ausgeschüttelten Serums oder durch eine solche der Lipoidaufschwemmung oder endlich drittens durch eine Veränderung im Zusammenwirken beider Faktoren, d. i. des Serums und der Aufschwemmung, begründet ist. Wir änderten also die Versuchsbedingungen derart, daß wir zu dem ausgeschüttelten Schwangerschaftsserum und Normalserum in gleicher Weise die Lipoidaufschwemmung des Normalserums zusetzten. Die Versuchsanordnung war folgende: In die erste Eprouvette der Reihe kamen 1 ccm des ausgeschüttelten Serums + 1 ccm der Normallipoidaufschwemmung. Diese Mischung wurde dann in fallender Verdünnung (1 : 20, 1 : 40 usw.) durch die weiteren mit 1 ccm NaCl-Lösung aufgefüllten Epruvetten durchpipettiert. Dazu kam analog den früheren Versuchen in jede Eprouvette 1 ccm 1 : 4000 bzw. 1 : 8000 Saponin + Hammelblut. Das Resultat dieser Versuche war ein negatives, als nicht, wie man hätte erwarten können, das entlipoidete Schwangerschaftsserum mit dem Normallipoid infolge einer eventuell vorhandenen stärkeren Bindung des Lipoids an das Schwangerschaftsserum eine geringere Hemmung zeigte, sondern kein wesentlicher verwertbarer Unterschied zwischen beiden Seris in ihrem Verhalten gegenüber der Saponinhämolyse bestand.

Um nun den Einfluß des ausgeschüttelten Serums genauer von dem Einfluß der Lipoidaufschwemmung trennen zu können, wurde zu abgestuft verdünntem, ausgeschütteltem Serum im Gegensatze zum früheren Versuche in jede Eprouvette die

gleiche Menge des Normallipoides zugesetzt. Diese Versuche wurden derart angestellt, daß zu fallend verdünnten entlipoideten Seris in jede Eprouvette 1 ccm der Lipoidaufschwemmung eines mitaufgestellten Normalserums zugesetzt wurde. Es zeigte sich bei diesen Versuchen ein ganz auffallendes Ergebnis: Die Eprouvetten, die eine stärkere Konzentration des ausgeschüttelten Serums enthielten, waren den Eprouvetten, die weniger konzentriertes Serum enthielten, in der Lysis deutlich voraus. Auf diesen Befund soll später noch genauer eingegangen werden.

Durch die bisherigen analytischen Versuche waren wir also nicht imstande, die uns vorgelegten drei Fragen, deren Beantwortung die Erklärung der Förderung bei einigen Seris Schwangerer bringen würde, zu beantworten, wohl deshalb, weil durch die Einwirkung des Aethers das feinere Gefüge der verschiedenen Kolloide verändert wurde; tatsächlich waren wir ja nicht imstande, durch Zusammenfügung der beiden durch Aether getrennten Fraktionen die ursprünglichen Verhältnisse wiederherzustellen. Dagegen erschien uns der zuletzt erhobene Befund der teilweisen Aufhebung der Hemmung der Lipoidaufschwemmung durch Zusatz entlipoideten Serums einer genaueren Untersuchung wert.

Wir versuchten, ob wir dieselben Verhältnisse auf synthetischem Wege wiederherstellen könnten und arbeiteten zuerst mit Albumin-, Globulin- und Cholesterinaufschwemmungen. Zu diesem Zwecke wurden zuerst Albumin und Globulin allein in der üblichen Versuchsanordnung aufgestellt, um zu sehen, ob diese Substanzen für sich allein einen Einfluß auf die Saponinhämolyse ausübten. Die Versuche hatten insofern ein negatives Resultat, als wir eine Beeinflussung der Saponinhämolyse weder von seiten des Albumins noch des Globulins gemäß den schon früher von Eisler und Kurt Meyer erhobenen Befunden feststellen konnten.

Herstellung der Lösungen:

Albuminlösung: 1 g kristallisiertes Albumin „Merck“ wurde mit 9 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt; dieses Gemisch vorsichtig so lange erwärmt, bis die Albuminkristalle vollständig gelöst waren. Diese leicht getrübbte Lösung wurde im Versuch verwendet.

Globulinlösung: 10 ccm steriles Pferdeserum wurde mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung gefällt, das im Filter zurückgebliebene Globulin

vorsichtig in Aqua dest. so lange gewaschen, bis im Filtrat kein Ammoniumsulfat mit Bariumchlorid nachgewiesen werden konnte. 1 g des im Filter zurückgebliebenen, abgepreßten Globulins wurde hierauf mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und mit dieser Lösung die Reihen aufgestellt.

Wir konnten nun die Lipoidwirkung auf die Saponinhämolyse bei Gegenwart von Eiweiß studieren und setzten zu diesem Zwecke Cholesterinemulsionen in verschiedener Konzentration zu den Albumin- bzw. Globulinreihen hinzu. Folgende Reihen mögen diese Befunde zeigen:

| (Trübung) $\frac{1}{2}$ ccm Albumin 1:20, 1:40 usw. $\frac{1}{2}$ ccm Cholesterin 1:2000. 1 ccm Saponin 1:4000. | | | | | | | | | | Sap.-K. |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------|
| 40' | +++ | ++ | ++ | ++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | fast noch +++ | fast noch +++ | — |
| 1 h | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | ++ | ++ | ++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | — |
| (Trübung) $\frac{1}{2}$ ccm Albumin 1:20, 1:40 usw. $\frac{1}{2}$ ccm Cholesterin 1:4000. 1 ccm Saponin 1:4000. | | | | | | | | | | Sap.-K. |
| 20' | +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | + | + | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | fast — |

Es zeigt sich also eine durchgehende Hemmung der Saponinhämolyse durch das Cholesterin gegenüber der Saponinkontrolle, in der kein Cholesterin enthalten war. Ferner ist fast in jeder Reihe in einigen Eproutetten eine Abschwächung der Hemmung zu sehen, obwohl in allen Eproutetten gleiche Mengen Cholesterin zugesetzt sind. Es wird also bei höheren Eiweißkonzentrationen die Saponinhämolyse durch das Cholesterin weniger gehemmt als bei niedrigerem Eiweißgehalt. Daß diese Abschwächung in fast allen Reihen in der ersten oder zweiten Eproutette nicht vorhanden war, ist aus der Trübung der Albuminlösung, die eine exakte Ablesung der Hämolyse verhindert, zu erklären.

Im folgenden sei auch eine Globulin-Cholesterinreihe angeführt:

| $\frac{1}{2}$ ccm Globulin 1:10, 1:20 usw. $\frac{1}{2}$ ccm Cholesterin 1:2000. 1 ccm Saponin 1:4000. | | | | | | | | | | Sap.-K. |
|---|------------------|------------------|------------------|-----|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|---------|
| 25' | +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | + |
| 45' | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | ++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | — |
| 1 h 15' | + | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | ++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | — |

Auch hier ergibt sich, wie beide Versuchsreihen zeigen, dasselbe Resultat. Die relativ stärkere Hämolyse war, gegenüber der der Saponinkontrolle, in der kein Cholesterin enthalten ist, zurück, weshalb also nur von einer teilweisen Aufhebung der Hemmung der Saponinhämolyse durch Cholesterin bei Gegenwart von Eiweißsubstanzen gesprochen werden kann.

Für die Erklärung dieser auffallenden Befunde kommen vor allem zwei Möglichkeiten in Betracht. Wir vermuteten zuerst, daß es sich möglicherweise um eine stärkere Eiweißlipoidbindung bei höherer Eiweißkonzentration, wodurch infolge des geringeren Gehaltes an freiem Cholesterin eine geringere antihämolytische Wirkung zustande käme, handeln könnte. — Wir stellten nun Reihenversuche mit nachträglichem Saponinzusatz an, aus der Ueberlegung heraus, daß eine Eiweißlipoidbindung nach mehrstündiger Einwirkung vor dem Saponinzusatz deutlicher zum Ausdruck kommen müßte, was sich in einer dementsprechend weiteren Aufhebung der Hemmung kundtun würde. Diese Versuche fielen negativ aus, d. h. es zeigte sich bei diesen Reihen kein Unterschied gegenüber den Reihen, in denen Saponin sofort zugesetzt worden war. In einigen dieser Reihen war sogar die Aufhebung der Hemmung weniger ausgesprochen.

Die zweite Erklärungsmöglichkeit war die, ob es sich bei den höheren Eiweißkonzentrationen nicht um eine andersartige molekulare Verteilung des Cholesterins in Eiweiß handeln könnte, eine Anregung, die wir Herrn Prof. E. P. Pick verdanken. Danach würde das höher konzentrierte Eiweiß als Schutzkolloid wirken, wodurch das Saponin vor der hemmenden Wirkung des Cholesterins geschützt würde. Um diese Frage zu entscheiden, stellten wir Versuche mit anderen kolloiden Substanzen, und zwar mit Stärkekleister und Mastixemulsion auf.

Herstellung der Stärkelösung: 1,5 g lösliche Stärke wurde zu 50 ccm kochender physiologischer Kochsalzlösung langsam zugesetzt; diese Emulsion zu weiteren 50 ccm kochender Kochsalzlösung langsam hinzugefügt, und zwar so, daß das Kochen der ersteren Lösung immer erhalten blieb.

Die resultierende 1,5-proz., leicht getrübbte Stärkeemulsion wurde in fallenden Verdünnungen im Reihenversuche aufgestellt.

Herstellung der Mastixlösung: Zu 1 cem Mastixstammlösung werden 9 cem absoluter Alkohol und 40 cem Aqua dest. vorsichtig hinzugefügt. Es entsteht eine trübe Mastixemulsion, mit der ebenso verfahren wurde wie mit der Stärke.

Stärke-Cholesterinversuch.

In jeder Eprouvette befinden sich 0,5 cem Cholesterin 1:2000, 1 cem Saponin 1:6000, 0,5 cem Stärkelösung in fallender Konzentration und 0,5 cem einer 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung.

| Verdünnung der 1,5-proz. Stärkelösg. | 1:1 | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | 1:64 | 1:128 | 1:256 | Stärke-K. | Saponin + Chol.- K. |
|--|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|-----------|---------------------------|
| 35' | ++ | zw. ++ u. ++ | zw. ++ u. ++ | zw. ++ u. ++ | zw. ++ u. ++ | zw. ++ u. ++ | ++ | zw. ++ u. +++ | zw. ++ u. +++ | +++ | zw. ++ u. +++ |
| 45' | + | + | + | + | + | + | zw. ++ u. ++ | ++ | ++ | +++ | ++ |
| 1 ^b 10' | — | — | — | — | — | — | + | + | + | +++ | + |

Es zeigt sich also, daß die erwähnte Abschwächung der Hemmung keine den Eiweißkörpern allein zukommende Eigenschaft ist, sondern daß auch andere kolloidale Substanzen, wie Stärke und Mastix, ein ähnliches Verhalten zeigen, was für eine andere molekulare Verteilung des Cholesterins bei höher konzentriertem Kolloid und gegen eine Bindung spricht, da eine solche zwischen Cholesterin und Stärke und Cholesterin und Mastix wohl nicht angenommen werden kann. Der Mastixversuch fiel in gleichem Sinne aus, obwohl hier die Ablesung infolge der stärkeren Trübung in den Eprouvetten höherer Mastixkonzentration undeutlicher war. Die Lösung der Frage nach der Ursache dieser Erscheinung sei noch weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Zum Schlusse sei noch ein Befund erwähnt, der uns bei unseren Versuchen mit Serum allein, das in ähnlicher Weise wie das Lecithin in der eingangs zitierten Arbeit von Luger, Weis-Ostborn und Ehrenthel bei Aufstellung einer langen Reihe mit fallender Verdünnung eine Kurve zeigt, aufgefallen ist. Der Vollständigkeit halber sei der in dieser Arbeit genau beschriebene Befund nochmals kurz zitiert.

Wässerige Lecithinemulsionen hemmen die Saponinhämolyse in hohen Konzentrationen, fördern sie in mittleren Verdünnungen, in den niedrigsten Konzentrationen sind sie ohne

Einfluß. Bei den Versuchen über die Beeinflussung der Saponinhämolyse durch menschliches Serum (1 ccm Serumverdünnung 1:10, 1:20, 1:40 usw., 1 ccm Saponin 1:4000, 0,5 ccm 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung) zeigte sich in den Serumverdünnungen von 1:10 bis ca. 1:640 eine Hemmung der Lysis, in den Verdünnungen 1:1280 bis ca. 1:5120 eine Förderung der Lysis, während noch geringere Serumkonzentrationen ein allmähliches Angleichen an die Saponinkontrolle (ohne Serum) zeigten. Da, wie gesagt, Lecithin auch eine solche Kurve zeigt, Cholesterin dagegen nicht, bei Verwendung eines Cholesterin-Lecithingemisches jedoch diese Kurve in allerdings nicht so schöner Weise wie bei Lecithin allein, aber dennoch zum Ausdrucke kommt, wäre es möglich, daß es sich bei der Beeinflussung der Saponinhämolyse durch menschliches Serum um die Wirkung der geringen Mengen Lecithins, die in ihm enthalten sind, handelt. In den bisherigen Arbeiten, die über den Einfluß der Saponinhämolyse handeln, war immer nur von Hemmung, niemals von einer Förderung der Saponinhämolyse durch Serum die Rede.

An dieser Stelle sei Herrn Dozenten Dr. A. Luger für die Anregung zu dieser Untersuchung und Unterstützung im Verlaufe der Arbeit gedankt.

Zusammenfassung.

1) Schwangerschaftssera hemmen im allgemeinen, entsprechend ihrem erhöhten Cholesteringehalt, die Saponinhämolyse stärker als Sera Nichtgravider; ein Teil der untersuchten Sera Schwangerer zeigt eine geringere Hemmung gegenüber Seris mit niedrigerem Cholesteringehalt.

2) Mit Aether ausgeschütteltes Serum ist imstande, die Hemmung der Saponinhämolyse durch die aus dem Serum gewonnene Lipoidaufschwemmung teilweise aufzuheben.

3) Albumin hebt die Hemmung der Saponinhämolyse durch Cholesterin teilweise auf; ebenso Globulin, Stärkekleister und Mastixemulsion.

4) Es scheint dabei die molekulare Verteilung des Lipoids im Eiweiß eine Rolle zu spielen.

5) In gewissen, sehr niedrigen Serumkonzentrationen fördert das Serum die Saponinhämolyse in ähnlicher Weise wie Lecithin. Es dürfte sich daher bei der Beeinflussung der Saponinhämolyse durch menschliches Serum neben der hauptsächlich Cholesterinwirkung auch um eine geringe Lecithinwirkung handeln.

Literatur.

- Chauffard, Laroche et Grigaut, *Extrait de l'obstétrique*, 1911, No. 5.
Eisler, *Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Ther.*, Bd. 3, 1906, S. 296.
Hermann und Neumann, *Wiener klin. Wochenschr.*, 1911, No. 12, S. 411.
M. Huffmann, *Centralbl. f. Gynäkol.*, 1915, S. 33.
Ransom, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1901, Heft 13, S. 194.
Kurt Meyer, *Archiv f. Hyg.*, Bd. 65, 1908, S. 293.
S. Fränkel, *Abderh. Biochem. Arbeitsmeth.*, Bd. 5.
Tudichum, *Die chem. Konstit. des Gehirnes der Menschen und der Tiere*, 1901.
Widal, Weill und Laudat, *La Semaine méd.*, Nov. 1912.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald.]

Weitere Versuche über die karotal-zentrale Einspritzung.

Von Prof. Dr. E. Friedberger und Dr. Gertrud Meißner.

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. August 1922.)

In einer früheren Arbeit von Friedberger und Oshikawa¹⁾ waren im Anschluß an die diesbezüglichen ersten Veröffentlichungen von Forssman²⁾ eingehende Untersuchungen über die Wirkung karotal-zentraler Einspritzung bei Versuchstieren, speziell bei Meerschweinchen, angestellt worden. Die Untersuchungen bezogen sich auf den Zusammenhang der Giftigkeit der Sera mit dem hämolytischen Titer, auf die Angriffsstelle im Organismus, auf die Beeinflussung der Giftigkeit derartiger Sera durch physikalische Einflüsse, auf die Beziehungen zur

1) Friedberger und Oshikawa, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, Bd. 33, 1921, Heft 1.

2) Forssman, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 110, 1920, S. 164.

Anaphylaxie, auf die Bindung der giftigen Komponente durch Antigene, auf die Wirkung normaler Sera von der Karotis aus usw.

In einer weiteren Arbeit von Friedberger und Schröder¹⁾ wurde dann festgestellt, daß das giftige Antiserum nicht im Kleinhirn (Forssman), sondern in der Medulla oblongata angreift, und hier schwere Veränderungen an den Kernen hervorruft.

Die Versuche wurden weiterhin, soweit es der Tiermangel zuließ, fortgeführt, und über einige die Arbeit von Friedberger und Oshikawa ergänzende und erweiternde Untersuchungen soll nun hier berichtet werden.

I. Meerschweinchenversuche.

a) Die Giftigkeit eines gegen Meerschweinchenblut gerichteten Kaninchenambozeptors.

Die Giftigkeit des isogenetischen und heterogenetischen hammelhämolytischen Kaninchenserums beruht bei der intravenösen wie intrakarotalen Einspritzung nach Forssman darauf, daß der heterogenetische Anteil dieses Hammelhämolysins Affinität zum Meerscheneiweiß hat. Die Bindungs- und Entgiftungsversuche von Friedberger und Oshikawa stehen mit dieser Deutung im Einklang, auch die Tatsache, daß ein beim Meerschweinchen durch Hammelblutinjektion gewonnenes Serum ungiftig war. Aber andererseits erwies sich ein Antitaubenserum vom Kaninchen als wirksam, obwohl es weder Hammelhämolysin enthielt, noch auf den „Meerschweinchentypus“ eingestellt ist. (Die Organe der Taube bilden und binden Hammelhämolysin nicht.) Dagegen erwies sich auch Kaninchenantipferde- und Antiziegenserum als unwirksam, obwohl es sich hier um Antikörper handelt, die auf Eiweiß vom Meerschweinchentypus eingestellt sind. Nur das Kaninchenantihundeeiweiß- und das Antihühnereiweißserum zeigten eine gewisse Giftigkeit.

Wir untersuchten nun weiterhin die Wirkung eines beim Kaninchen hergestellten Meerschweinchenblutambozeptors bei

1) Friedberger-Schröder, Zeitschr. f. d. ges. exper. Medizin, Bd. 26, 1922, H. 3—6.

karotalzentraler Einspritzung im Vergleich zur intravenösen. Daß ein solches Serum bei intravenöser Einspritzung unter Umständen akut toxisch wirkt, ist ja aus den ältesten Hämolytischenversuchen in vivo, denen von Belfanti und Carbone¹⁾ bekannt, die ganz allgemein zeigten, daß das Serum eines Tieres, das mit einer bestimmten Blutart vorbehandelt ist, für die betreffende Tierspezies in vivo hämolytisch und toxisch ist.

Für uns galt es nun, festzustellen, wie ein solches Serum von der Karotis aus wirkt. Hier war besonders von vornherein zu erwarten, daß der Antikörper sofort von den Meerschweinchenblutkörperchen in der Blutbahn gebunden wird und noch eher entgiftet wird, als das bei einem isogenetischen und heterogenetischen Hammelblutambozeptor durch die Meerschweinchenorganzellen erreichbar ist. Es war dann kaum anzunehmen, daß das Hämolsin noch bis in die nach Friedberger und Schröder empfindlichen Stellen in der Medulla oblongata gelangen könnte.

Versuch: Kaninchen G 22, 1900 g, erhält am 17., 21. und 25. III. je 1 ccm 3mal gewaschene Meerschweinchenblutkörperchen i. v. 4. III. entblutet. Den Titer des Serums für die Blutarten, die hier von Interesse sind, zeigt die nachstehende Tabelle.

Tabelle I.

Hämolytischer Titer des Kaninchenserums G 22 für Meerschweinchen- und Hammelblutkörperchen.

| Ambozeptor G 22 | Komplement | Hämolyse für 5-proz. Meerschweinchenblut | Hämolyse für 5-proz. Hammelblut |
|--------------------|------------|---|------------------------------------|
| 0,1 | 0,1 | fast komplett gelöst | 0 |
| 0,08 | 0,1 | " " " | 0 |
| 0,06 | 0,1 | " " " | 0 |
| 0,04 | 0,1 | " wenig gelöst " | 0 |
| 0,02 | 0,1 | " 0 " | 0 |
| 0,01 | 0,1 | 0 | 0 |
| 0,1 | — | 0 | 0 |
| — | 0,1 | 0 | 0 |

Es fehlt also jeglicher hämolytischer Titer für Hammelblut. Aber auch für Meerschweinchen ist er gering, was darauf beruhen dürfte, daß hier Komplement und zu lösendes Antigen

1) Belfanti und Carbone, Giorn. della R. Accad. di med. di Torino, 1898.

(Blutkörperchen) der gleichen Tierspezies angehören. Unter solchen Bedingungen ist nach unseren Erfahrungen die Hämolyse immer nur sehr schwach.

Es war nun von Interesse, zu sehen, wie dieses ein Hammelhämolysin vollkommen entbehrende Serum sich im Tierversuch bei karotal-zentraler Einspritzung verhält.

Auswertung der Giftigkeit des Serums beim Meerschweinchen intravenös und karotal-zentral.

Meerschweinchen G 39, 250 g, erhält 0,4 ccm des Serums i. v. in die Jugularis. Sofort leichte Krämpfe, die nach 1 Minute aufhören. Tod nach 20 Stunden. Sektion: Milz blauschwarz und groß; in der Leber zahlreiche rote Flecken; Niere stark hämoglobindurchtränkt. Urin blutig gefärbt.

Wir haben hier also das typische Bild der intravitalen Blutkörperchenzerstörung, wie es schon Belfanti und Carbone¹⁾ beschrieben haben.

Meerschweinchen G 38, 250 g, erhält die doppelte Dosis wie das vorige, also 0,8 ccm, des gleichen Serums i. v. Das Tier liegt sofort ganz schlaff da, macht einzelne krampfartige Atembewegungen, ist nach 1 Minute tot.

Die tödliche Dosis dieses Serums liegt also bei intravenöser Zufuhr für Meerschweinchen von 250 g etwa bei 0,4 ccm.

Nunmehr wurde das Serum karotal-zentral eingespritzt.

Meerschweinchen G 36, 350 g, erhält 0,2 ccm des Serums in die rechte Karotis zentral. Tier ist sofort schlapp; liegt auf der Seite, rollt die Augen. Cornealreflexe sind beiderseits erhalten. Nach 5 Minuten erholt sich das Tier wieder und bleibt gesund.

Meerschweinchen G 37, 250 g, erhält 0,4 ccm des gleichen Serums in gleicher Weise injiziert. Das Tier ist sofort schlapp; liegt auf der Seite. Nach 5 Minuten Zwangshaltung: Lage auf der rechten Seite, Kopf nach oben; linke Vorderhand in die Luft gestreckt, rechte Hinterpfote gerade abgestreckt. 1 Minute später heftige Rollbewegungen 10–12mal. Dann verharrt das Tier 3 Minuten in der vorher beschriebenen Lage. Von neuem Rollbewegungen über den ganzen Tisch. Liegt danach auf der rechten Seite, Rücken typisch konvex; die rechten Extremitäten abgestreckt, Kopf nach vorn oben gedreht; Krämpfe. Jede stärkere Berührung des Tieres löst Rollbewegungen aus. Findet das Tier dabei einen Widerstand, so bleibt es still in der vorher beschriebenen Zwangsstellung bei krampfhafter Muskulaturspannung liegen. Nach $\frac{1}{4}$ Stunde macht es allmählich den Versuch, sich aufzurichten. Nach 40 Minuten macht das Tier bis auf

1) a. a. O.

Fellsträuben wieder normalen Eindruck. Den Tag über bleibt das Befinden unverändert. Am nächsten Morgen, also nach 20 Stunden, wird das Tier tot aufgefunden.

Sektionsbefund: Milz vergrößert, dunkelblaurot. Leber zeigt starke Venenzeichnung, sieht sehr dunkel aus; unregelmäßige blauschwarze Hämorrhagien. In den Nieren beiderseits verstreut dunkle Flecke. Aus der Blase entleert sich tiefdunkler Urin. Herz und Lungen ohne Besonderheiten.

Dieser Versuch wurde noch einmal wiederholt genau mit dem gleichen Ergebnis.

Wir haben hier also zweifellos durch die karotal-zentrale Einspritzung eines meerschweinchenhämolytischen, aber nicht auf Hammelblut wirkenden Serums neben den auch bei intravenöser Injektion vorhandenen Erscheinungen (siehe Sektionsbefund) wiederum die für die karotal-zentrale Einspritzung des isogenetischen und heterogenetischen Hammelhämolysins typischen Erscheinungen zu verzeichnen. Es ist, wie schon oben erwähnt, schwer verständlich, daß das Meerschweinchenhämolysin unabgesättigt noch in genügender Menge zu den empfindlichen Stellen im Gehirn gekommen sein sollte, zumal sein Titer für Meerschweinchenblut, wenigstens bei Verwendung von Meerschweinchenkomplement, ein sehr geringer war. Näher läge es dann schon, anzunehmen, daß nicht der Antikörper selbst, sondern durch Berührung mit dem Antigen (Meerschweinchenerythrozyten) erzeugte Giftkomponenten hier in Frage kommen. Die Vorstellung, daß der Antikörper an sich im Blutstrom durch die Meerschweinchenerythrozyten ausgefällt werden müsse, ist um so wahrscheinlicher, als es sich im Bindungsversuch mit diesem Serum ergab, daß auch in vitro sogar die $1\frac{1}{2}$ -fache tödliche Dosis dieses Antimeerschweinchenblutserums schon durch 1 ccm gewaschenen Meerschweinchenvollblutes vollkommen entgiftet wird.

b) Ausfällungsversuche.

Im Anschluß an die Bindungsversuche von Friedberger und Castelli¹⁾ bezüglich der Giftigkeit der iso- und heterogenetischen Antihammelblutsera bei intravenöser Injektion hatte schon Forssman²⁾ gezeigt, daß durch Adsorption mit

1) Friedberger und Castelli, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 1910, Heft 1.

2) Forssman, a. a. O.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 36.

Meerschweinchenniere auch die karotalzentrale Giftwirkung aufgehoben wird.

Friedberger und Oshikawa¹⁾ haben dann nachgewiesen, daß auch durch Hammel- und Ziegenblut, nicht aber durch Menschen- und Rinderblut die karotal-zentrale Giftwirkung paralytisiert wird. Die Autoren haben weiterhin gezeigt, daß Meerschweinchenhirn, aber auch der Voraussetzung entgegen Kaninchenhirn (also Antigen vom „Kaninentypus“) das Gift teilweise adsorbiert.

In Analogie mit diesen Versuchen haben wir nun also die Ausfällung des karotal zentral giftigen Antimeerschweinchenhämolytins mit isogenetischem Blut (erhitzt und unerhitzt) und mit Organzellen vom Meerschweinchentyp (Meerschweinchen-niere) ausgeführt.

Ausfällung mit Meerschweinchenblut:

1 ccm Meerschweinchenblutambozeptor G 22 wird mit dem Bodensatz von 1 ccm 3mal gewaschenen Meerschweinchenblutkörperchen 1 Stunde bei 37° digeriert und abzentrifugiert. Der Abguß wurde Meerschweinchen G 42, 250 g, in einer Menge von 0,8 ccm in die rechte Karotis zentral injiziert. Das Tier bleibt munter, ohne Erscheinungen. Es stirbt erst 2 Tage später.

Weiterhin wurde der Meerschweinchenblutambozeptor mit Meerschweinchenblutkörperchen, die 10 Minuten gekocht waren, unter analogen Bedingungen ausgefällt.

Meerschweinchen E 11, 350 g, erhält von diesem Abguß 0,8 ccm in die rechte Karotis zentral. Das Tier bleibt gesund.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, daß durch Ausfällung mit Meerschweinchenblut in vitro das Meerschweinchenhämolytin bei nachheriger karotal-zentraler Einspritzung ungiftig geworden ist.

Ein weiterer Versuch wurde mit Meerschweinchenniere angestellt.

Ein Meerschweinchen wurde vollständig entblutet und von der Aorta aus $\frac{1}{2}$ Stunde mit Kochsalzlösung durchgespült. 1 g der Niere dieses Tieres wurde mit 1,5 ccm Ambozeptor G 22 verrieben und 1 Stunde bei 37° digeriert. Die Aufschwemmung wurde stark zentrifugiert.

Meerschweinchen G 40, 330 g, erhält 0,5 ccm des Abgusses in die rechte Karotis zentral. Sofort nach der Infektion treten krampfartige

1) a. a. O.

Zuckungen der hinteren Extremitäten auf. Strabismus. Nach 5 Minuten hören die Zuckungen auf, das Tier liegt schwer atmend auf der linken Seite. Beim Versuch, es aufzurichten, fällt es stets auf die linke Seite zurück. Es stirbt nach 40 Minuten. Sektionsbefund: Starke Hyperämie und hochgradige Dilatation der Bauchgefäße, einzelne petechiale Blutungen, Milz und Leber blauschwarz, Lunge wenig hyperämisch. Herzblut flüssig, sieht jedoch nicht hämolysiert aus.

Aus diesem Versuch ergibt sich, daß Meerschweincheniere im Gegensatz zu den Blutkörperchen des Meerschweinchens die giftige Komponente aus dem Serum nicht adsorbiert. Das bestätigt auch die Titration des mit Meerschweincheniere ausgefallten Ambozeptors G 22 (s. Tabelle II).

Tabelle II.

| Ambozeptor | Komplement | Meerschweinchenblut | Hämolyse | |
|------------|------------|---------------------|------------------|---------------------------------|
| | | | Ambozeptor nativ | Ambozeptor mit Niere ausgefällt |
| 0,1 | 0,1 | 0,05 | fast gelöst | fast gelöst |
| 0,08 | | | " " | " " |
| 0,06 | | | " " | " " |
| 0,04 | | | wenig gelöst | wenig gelöst |
| 0,02 | | | " " | " " |
| 0,01 | ↓ | ↓ | " 0 " | " 0 " |
| 0,1 | | | 0 | 0 |
| — | | | 0 | 0 |
| | 0,1 | | | |

Gegen diesen Versuch aber war immer noch der Einwand möglich, daß es sich bei der zutage tretenden Giftigkeit des mit Niere absorbierten Serums nicht um das Hämolysin als Träger dieser Giftigkeit handelt, sondern daß hier eine durch die Versuchsanordnung (Ausfällung mit Organemulsion) bedingte einfache Organextraktgiftwirkung vorliegt. Nach den Untersuchungen von Brieger und Uhlenhuth¹⁾, Cesa-Bianchi²⁾, Dold³⁾, Friedberger und Ishikawa⁴⁾, Ishikawa⁵⁾ u. a. sind ja gerade die Nieren- und Lungen-

1) Brieger und Uhlenhuth, Deutsche med. Wochenschr., 1908.

2) Cesa-Bianchi, zahlreiche Arbeiten in Pathologica, 1911 ff.

3) Dold und Ogata, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 13, 1912, S. 667.

4) Friedberger und Ishikawa, 7. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie, Berlin 1913.

5) Ishikawa, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 18, 1913, Heft 2.

extrakte besonders giftig. Obwohl diese Giftwirkung durch Digerieren mit Serum aufgehoben wird [Dold¹⁾], so bestand doch immerhin die Möglichkeit, daß diese Aufhebung nicht vollständig war und daß so lediglich eine Organextraktwirkung vorlag.

Um diesen Einwand auszuschalten, haben wir nochmals Meerschweinchenniere mit Normalkaninchenserum statt Immunserum behandelt. Läge eine Extraktgiftwirkung vor, so müßten die Abgüsse gleichfalls giftig sein.

Daß dem nicht so ist, zeigt der folgende Versuch.

1,5 ccm Normalkaninchenserum werden mit 1 g gut gewaschener Meerschweinchenniere 1 Stunde bei 37° ausgefällt und gut zentrifugiert. Meerschweinchen G 45, 300 g, erhält 0,5 ccm des Abgusses in die rechte Karotis zentral. Das Tier zeigt keinerlei Erscheinungen.

Es ergibt sich also demnach, daß eine Organextraktgiftwirkung nicht vorliegt und daß tatsächlich nur die Meerschweinchenblutkörperchen, nicht aber die Organzellen das karotal-zentral giftige Prinzip des Meerschweinchenblutambozeptors zu verankern vermögen.

c) Weitere Versuche über die Giftigkeit von Normalseris bei karotalzentraler Einspritzung.

Friedberger und Oshikawa haben gezeigt, daß nicht nur das hammelhämolytische Serum, sondern auch gewisse Normalsera in größeren Dosen bei karotal-zentraler Einspritzung die typischen Symptome hervorrufen. Untersucht wurden damals das Normalkaninchen- und Normalrinderserum und das giftige Aalserum. Es ergab sich, daß auch hier wiederum die tödliche Dosis des aktiven und inaktiven Serums von der Karotis aus kleiner war als von der Vene aus.

Wir haben diese Versuche weiter fortgeführt. Zunächst ergab sich in Bestätigung der früheren erneut die Giftigkeit des Normalrinderserums von der Karotis aus unter den typischen Symptomen. Das Hammelserum erwies sich von der Karotis aus innerhalb der verwandten Dosen als ungiftig. Dagegen zeigte Schweineserum wieder eine beträchtliche Giftigkeit. In der nachstehenden Tabelle sind einige entsprechende Versuche zusammengestellt.

1) a. a. O.

Tabelle III.
Meerschweinchen gespritzt mit Normalserum.

| Meersch. No. | Gewicht g | Behandlung | | | Erscheinungen | Tod nach |
|-----------------|--------------|-------------------------------|--------------|------------------------------|--|--------------------|
| | | Injektions- gut | Dosis ccm | Ort | | |
| G 25 | 190 | Schweine- serum frisch | 1,0 | rechte Karotis zentral | typisch. Manögebewegun- gen gegen den Uhrzeiger. Rollbewegungen nach links herum | $\frac{1}{4}$ Std. |
| 420 | 200 | Schweine- serum frisch | 0,5 | dgl. | typisch. Rechte Seitenlage, starker Opisthotonus, Ex- tremitäten abgestreckt, Strabismus | $\frac{1}{2}$ Std. |
| 415 | 200 | Schweine- serum inaktiv | 0,5 | „ | typisch. Opisthotonus, Roll- bewegungen. Große Re- flexerregbarkeit | 3 Std. |
| 414 | 240 | Rinder- serum frisch | 0,5 | „ | typisch. Strabismus. Opi- sthotonus, links seitliche Rückenlage, Extremi- täten abgestreckt | 20 Min. |
| 417 | 270 | Rinderserum inaktiv | 0,5 | „ | keine Symptome | ∞ |
| W 11 | 370 | Rinderserum inaktiv | 1,0 | „ | nach 1 Min. Rollbewegun- gen, starke Atemnot | 3 Min. |
| 416 | 340 | Hammel- serum frisch | 1,0 | „ | — | — |
| 352 | 400 | dgl. | 1,0 | „ | — | — |
| G 26 | 270 | „ | 0,5 | „ | — | — |
| G 46 | 200 | „ | 1,5 | „ | — | — |

d) Ueber die Giftigkeit von Bakterien bei karotal-
zentraler Einspritzung.

Friedberger und Oshikawa¹⁾ haben nicht nur art-
fremdes Serum giftig gefunden, sondern auch toxische Eiweiß-
stoffe, wie das Schlangengift. Es lag deshalb nahe, ent-
sprechende Versuche auch mit Bakterien anzustellen. Wir
haben dazu Aufschwemmungen von Prodigiosus- und OX 19-
Bazillen benutzt.

Ueber diese Versuche können wir uns kurz fassen. Selbst
so enorme Mengen, wie die Ernte von 2—3 Petrischalen Pro-
digiosus oder von 5 Petrischalen gut gewachsenem OX 19
riefen in 0,5 ccm Volumen, karotal-zentral eingespritzt, kei-

1) a. a. O.

nerlei typische Symptome hervor. Allerdings starben die Tiere nachher an der toxischen Wirkung des Bakterieneiweißes. Als Beispiel seien die beiden folgenden Versuche angeführt.

Meerschweinchen G 28, 230 g. erhält die Abschwemmung von $2\frac{1}{2}$ Platten reichlich gewachsener *Prodigiosus*kultur, die 1 Std. bei 60° abgetötet wurde, und die nach dem Zentrifugieren in 0,5 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurden, in die linke Karotis zentral. Keine Erscheinungen. Am nächsten Morgen wird das Tier tot aufgefunden.

Meerschweinchen G 29, 240 g. erhält die Aufschwemmung von 5 Platten reichlich gewachsener OX 19-Emulsion in 0,5 ccm Volumen, die $1\frac{1}{2}$ Std. bei 60° abgetötet sind, in die linke Karotis zentral. Das Tier macht sofort nach der Injektion sehr matten Eindruck, stirbt nach $6\frac{1}{4}$ Std. ohne typische Erscheinungen.

II. Kaninchenversuche.

Wir haben nunmehr entsprechende Versuche auch bei Kaninchen ausgeführt.

Beim Kaninchen, als einem Tier des „Kaninentypus“, dürften hammelhämolytische Sera, sofern im Sinne von Forssman die Giftigkeit der isogenetischen und heterogenetischen Antihammel-Kaninchenserum für das Meerschweinchen lediglich auf den besonderen Beziehungen zu den Organzellen des Meerschweinchens beruht, keine Giftwirkung karotal-zentral auslösen, denn zu den Zellen des Kaninentypus sollen ja die Sera keine Affinität haben und ebenso müßten sich andere Tiere des Kaninentypus verhalten, wie z. B. Taube und Ratte. Doch ergaben die Versuche von Friedberger und Oshikawa¹⁾, daß bei der Taube und dem Kaninchen entgegen den Voraussetzungen sich bei karotal-zentraler Einspritzung typische Symptome erzeugen lassen, und Friedberger und Schröder²⁾ haben weiterhin gezeigt, daß sich hier bei Kaninchen die gleichen histologischen Veränderungen in der Medulla oblongata finden wie bei Meerschweinchen. Allerdings gelang es uns nicht immer, namentlich nicht immer mit isogenetischen Antihammelblutseris beim Kaninchen Symptome zu erzielen.

Unsere weiteren Untersuchungen beziehen sich nun auf die Wirkung des Normalserums auf das Kaninchen bei

1) a. a. O.

2) a. a. O.

karotal-zentraler Einspritzung. Auch hier trat bei Verwendung von Rinder- und Schweineserum in Dosen von 2—3 ccm nicht so regelmäßig wie beim Meerschweinchen das typische Symptomenbild auf. Aber zweifellos ist es in einer Anzahl von Fällen vorhanden. Wir bringen je einen typischen Versuch mit Rinder- und Schweineserum.

Kaninchen G 15, 1150 g, erhält 2 ccm frisches Schweineserum in die rechte Karotis zentral. Nach 8 Minuten treten Krämpfe und Rollbewegungen rechts herum auf. Rechtes Vorderbein liegt abgestreckt vor linkem gekreuzt, starker Opisthotonus, linke Seitenlage, erhöhte Reflexerregbarkeit, unkoordinierte Bewegungen. 4 Minuten später ist rechts Korneal- und Pupillenreflex erloschen, links beides noch träge vorhanden. Das Tier liegt dann dauernd auf der linken Seite in der vorher beschriebenen Lage, die Ohren liegen dem Körper an, es schaut zur Decke. Beim Versuch, es auf die rechte Seite zu legen, kommt es zu extremer Drehung des Kopfes nach links und schließlich zum Umdrehen. Ab und zu treten Rollbewegungen auf. Ohne daß eine wesentliche Aenderung im Befinden eintritt, stirbt das Tier nach 7 Stunden. Die Sektion ergibt starke Hyperämie sämtlicher Organe; sonst ohne Besonderheiten.

Kaninchen T 99, 1500 g, erhält 2 ccm inaktiviertes Rinderserum in die rechte Karotis zentral. Das Tier ist zunächst munter. Erst 4 Tage später treten typische Symptome auf. Das Tier liegt morgens in linker Seitenlage mit rechts Konvexität, macht ab und zu krampfhaft Rollbewegungen. Den Tag über bleibt das Befinden unverändert. Abends treten Manögebewegungen gegen den Uhrzeiger auf. Am nächsten Morgen lebt das Tier noch, liegt aber schlaff auf der linken Seite. Legt man es auf die rechte Seite, so dreht es den Kopf stark nach links herüber; es gelingt ihm aber nicht mehr, sich nach links herum zu drehen. Augenreflexe sind beiderseits erloschen. Sehr starke Gewichtsabnahme (von 1500 auf 1120 g). 4 Uhr nachmittags stirbt das Tier. Die Sektion ergibt starke Hyperämie der Leber und des Gehirns, geringere der Lungen; sonst ohne Besonderheiten.

III. Mäuseversuche.

Der Mangel an Meerschweinchen und Kaninchen zwang uns nunmehr, die weiteren Versuche an Mäusen auszuführen. Wir benutzten, um unsere Zucht nicht zu stören, ausschließlich den Ueberschuß an männlichen Mäusen, deren Gewicht zwischen 15 und 25 g schwankte, meist um 20 g betrug.

Es ist nicht ganz einfach, bei der Maus die Karotis freizulegen und in das dünne Gefäß mit seinen außerordentlich zarten Wänden einwandfrei zentral zu injizieren. Doch gelang es uns nach einigen Fehlschlägen später fast regelmäßig glatt.

Da derartige Versuche unseres Wissens bisher noch nicht ausgeführt sind, sei die Technik kurz beschrieben.

Die Maus wird auf ein etwa handflächengroßes Brettchen aus Zigarrenholz, das ähnlich wie die Froschbretter mit vier seitlichen und einem oberen Einschnitt versehen ist, so auf dem Rücken liegend aufgespannt, daß zunächst die Beine mit Wollfadenschlingen umfaßt und diese in die Kerben des Brettes eingespannt werden. Dann wird eine Schlinge durch den Oberkiefer gelegt, wobei die vorderen Schneidezähne das Abrutschen verhindern. Diese Schlinge wird durch zwei eingebaute Löcher geführt, wodurch der Kopf fest an das Brett fixiert wird, und die Fadenenden werden in der oberen Kerbe des Brettes befestigt. Das Tier ist dann vollkommen fixiert. Schnittführung genau wie beim Meerschweinchen vom Kinn bis zum Manubrium sterni mittels feiner Schere; Zurückpräparieren der Muskulatur über der Trachea. Freilegen der Karotis unter Schonung des Vagus. Periphere Unterbindung mit feiner Seide, zentrale Schlinge, Einspritzung zwischen Knoten und Schlinge; Unterbindung. In analoger Weise erfolgte in den Kontrollversuchen die Einspritzung in die Jugularvene, die genau wie beim Meerschweinchen durch leichten Druck in der Achselgegend zum Anschwellen gebracht werden kann.

Im Gegensatz zu den Meerschweinchenversuchen, bei denen die Wunde, sofern man sie nur offen läßt, ohne jede Asepsis immer per primam heilt, vertragen die Mäuse die Operation schlecht und gehen fast ausnahmslos im Laufe der nächsten Tage ein. Da es sich aber für uns nur um die Feststellung der Symptome im unmittelbaren bzw. baldigen Anschluß an die Injektion handelt, so fällt das nicht weiter störend ins Gewicht.

Die Maus ist ein Tier, das nach den Untersuchungen von Doerr und Pick¹⁾ gewissermaßen eine Mittelstellung zwischen den Tieren des „Kaninentypus“ und des „Meerschweincentypus“ einnimmt, derart, daß bei Ausfällung mit einem heterogenetischen Ambozeptor Niere und Muskel, nicht aber Gehirn und Leber (Blutkörperchen) das Hämolysin binden. Obwohl schon nach den Versuchen von Friedberger und Oshikawa²⁾ an Tauben und Kaninchen die Beziehungen, wie sie Forssman annimmt, als nicht zu Recht bestehend betrachtet werden dürfen, sei doch auf diese Verhältnisse hier kurz hingewiesen.

1) Doerr und Pick, Biochem. Zeitschr., Bd. 50, 1913.

2) a. a. O.

Wir haben nun Mäuse mit Normalseris, heterogenetischen Antihammelblutseris, ferner mit Mausblutambozeptor von Kaninchen behandelt und endlich auch mit mit verschiedenen Organen ausgefällten entsprechenden Seris. In einer Reihe von Fällen erhielten wir, wie noch nachstehend gezeigt werden wird, typische Symptome, die denen bei karotal-zentraler Einspritzung beim Meerschweinchen entsprechen und bei intravenöser Einspritzung nie zu beobachten gewesen sind. Da naturgemäß das Symptomenbild aber doch etwas von dem des Meerschweinchens abweicht, so sei es in seinem Typus, auch um spätere Wiederholungen zu vermeiden, zunächst hier einmal kurz geschildert.

Die Maus liegt nach der Injektion meist schlaff da und atmet tief und schnell. Nach einigen Minuten wird die Atmung lebhafter, das Tier reagiert auf Anfassen oder Kneifen durch Aufspringen, nimmt die typische Haltung ein: links Konvexität, Kopf nach rechts gedreht, linke Extremitäten abgestreckt, Schwanz wird im rechten Winkel gehalten. Ferner kommt es zu den typischen Roll- und Manègebewegungen. Dann bleibt das Tier meist in der links konvexen Lage, schwer atmend, leicht zitternd liegen. Die Zwangsbewegungen lassen sich durch mechanische Hautreize bei der Maus besonders prompt auslösen. Die Manègebewegungen sind gegen den Uhrzeiger gerichtet, nur einmal trat Manège mit dem Uhrzeiger auf. Das Verhalten der Augen entspricht in gewissem Sinne auch dem beim Meerschweinchen. Rechts machen sich die Störungen zuerst bemerkbar, die zumeist zu einer sehr schnellen Verklebung der rechten Augenlider führen. Auch links erlischt dann der Kornealreflex und schließlich auch der Lidreflex. Eigentümlich ist noch ein Reflex, der sich sehr leicht durch Kneifen des Schwanzes auslösen läßt. Das Tier klappt dann in der Mitte „taschenmesserartig“ zusammen (von uns in den Protokollen kurz als „Taschenmesserreflex“ bezeichnet), so daß der Kopf bis zur Hinterbacke herangeht. Meist ist auch dabei die Konvexität nach links gerichtet.

Die Symptome treten zuweilen schon unmittelbar nach der Injektion auf; oft aber erst nach 5—15 Minuten. Der Tod erfolgte je nach der Dosis zu ganz verschiedenen, in den

Tabellen verzeichneten Zeiten. Die Sektion ergab bei den akut gestorbenen Tieren nichts Typisches. Die Gehirne und anderen Organe sind zu histologischen Untersuchungen eingelegt; hierüber, speziell über die Gehirnbefunde, wird später berichtet werden.

a) Versuche mit Normalseris.

Die Versuche wurden mit Rinder-, Schweine-, Hammel- und Kaninchen serum (meist frisch) angestellt. Die Resultate sind in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle IV.
Weiße Mäuse, gespritzt mit Normalserum.

| Maus No. | Gewicht g | Behandlung | | | Erscheinungen | Tod nach |
|----------|-----------|------------------------|-----------|------------------------|---|----------|
| | | Injektionsgut | Dosis ccm | Ort | | |
| G 5 | 20 | Rinder-serum frisch | 0,1 | rechte Karotis zentral | nach $\frac{1}{2}$ Std. Rollbewegungen, Rechtskonvexität, Extremitäten abgestreckt, Taschenmesserreflex | 30 Std. |
| G 6 | 20 | Rinder-serum frisch | 0,1 | dgl. | Sofort Rollbewegungen, linke Seitenlage, Extremitäten abgestreckt | 20 Std. |
| G 7 | 20 | Rinderserum frisch | 0,2 | „ | — | 5 Tagen |
| G 10 | 20 | Rinderserum frisch | 0,2 | iv. | — | 48 Std. |
| G 12 | 20 | Rinderserum inaktiv | 0,1 | rechte Karotis zentral | — | 3 Tagen |
| G 8 | 20 | Schweine-serum frisch | 0,2 | dgl. | nach 40 Std. Taschenmesserreflex, Zwangshaltung in linker Seitenlage, in die das Tier stets zurückkehrt | 50 Std. |
| G 9 | 20 | Schweine-serum frisch | 0,2 | iv. | — | — |
| G 43 | 20 | Kaninchen-serum frisch | 0,1 | rechte Karotis zentral | — | 5 Tagen |
| G 44 | 19 | dgl. | 0,2 | dgl. | — | 6 „ |
| G 47 | 21 | „ | 0,4 | „ | — | 3 „ |
| G 45 | 19 | „ | 0,5 | „ | Krämpfe, Atemnot | 5 Min. |

Nur das Rinderserum und weniger das Schweineserum erwiesen sich als wirksam, wenn auch nicht in jedem Falle.

Das Normalkaninchenserum vermochte dagegen von der Karotis aus in sehr großen Dosen keine Symptome hervorzurufen. Bei der Dosis von 0,5 ccm trat zwar akuter Tod unter Krämpfen ein, doch waren die Symptome keineswegs die typischen der karotal-zentralen Einspritzung.

Auffallend ist noch das Verhalten des Tieres G 8 (Schweineserum), bei dem in den ersten Stunden nach der Injektion und auch am folgenden Tag bei wiederholter Beobachtung keinerlei Krankheitssymptome zu verzeichnen waren. Diese traten vielmehr erst nach 40 Stunden auf. Siehe auch Kaninchen T 99, S. 377.

Tabelle V.

Weiße Mäuse, gespritzt mit hammelhämolyschem Serum.

| Maus No. | Gewicht g | Behandlung | | | Erscheinungen | Tod nach |
|----------|-----------|--------------------------------------|-----------|------------------------|--|----------|
| | | Injektions-gut | Dosis ccm | Ort | | |
| G 30 | 22 | heterogenetischer Ambozeptor No. 100 | 0,01 | rechte Karotis zentral | sofort Krämpfe | 5 Min. |
| G 29 | 19 | dgl. | 0,01 | dgl. | — | — |
| G 33 | 22 | „ | 0,03 | „ | — | 65 Std. |
| G 19 | 20 | „ | 0,05 | „ | linke Seitenlage, Manöverbewegungen gegen den Uhrzeiger, Rollbewegungen, Taschenmesserreflex | 48 „ |
| G 16 | 20 | „ | 0,1 | „ | linke Seitenlage, Manöverbewegungen mit dem Uhrzeiger | 30 „ |
| G 18 | 20 | heterogenetischer Ambozeptor D 5 | 0,05 | „ | — | 48 „ |
| G 17 | 20 | dgl. | 0,1 | „ | — | 48 „ |
| G 21 | 20 | isogenetischer Ambozeptor G 11 | 0,05 | „ | — | — |
| G 53 | 19 | dgl. | 0,1 | „ | leichte Krämpfe | — |
| G 52 | 20 | „ | 0,3 | „ | schwere Krämpfe, die nach 5 Min. aufhören | — |
| G 48 | 21 | Rinderblutambozeptor D 15 | 0,1 | „ | — | 4 Tagen |
| G 49 | 19 | dgl. | 0,2 | „ | — | 1½ Min. |
| G 50 | 20 | „ | 0,3 | „ | — | — |

b) Verhalten von Antihammelblutseris.

Es wurde der heterogenetische Antihammelblutambozeptor No. 100, erzeugt mit Meerschweinchenniere, sowie der heterogenetische Ambozeptor D 5, isogenetisches Hammelhämolysin G 11 und ein Rinderhämolysin D 15, sämtliche vom Kaninchen, benutzt.

Die Ergebnisse zeigt die vorstehende Tabelle V auf S. 381.

Eines der heterogenetischen Sera (No. 100) rief in relativ kleinen Dosen typische Erscheinungen hervor. Das andere war unwirksam, und ebensowenig riefen das isogenetische Hammelhämolysin und das Rinderhämolysin typische Symptome hervor, wenn auch der isogenetische Ambozeptor in größeren Dosen atypische Krämpfe bedingte.

c) Verhalten von Antimausblutseris.

In Analogie mit den Versuchen am Meerschweinchen mit einem Meerschweinchenhämolysin haben wir nun auch die Versuchsanordnung von Belfanti und Carbone¹⁾ bei karotalzentraler Einspritzung wiederholt, d. h. wir haben Mäuse mit einem Mausblutambozeptor behandelt.

Kaninchen No. G 21, 2550 g, erhält am 16., 20., 24. II. je $\frac{1}{2}$ cem 3mal gewaschener Mäuseblutkörperchen iv. Entblutet am 3. III. 22. Titer für Mäuseblutkörperchen 0,0004.

Die Giftigkeit dieses Serums von der Karotis und von der Vene aus zeigt die nachstehende Tabelle VI auf S. 383.

In völliger Analogie mit den Versuchen beim Meerschweinchen ergibt sich, daß auch hier das Serum von der Karotis aus typisch wirkt und in kleineren Dosen als von der Vene aus. Auch der Sektionsbefund ist ein analoger.

d) Bindungsversuche.

In Analogie mit den Ausfällungsversuchen primär giftiger Antisera bei intravenöser Einspritzung (Friedberger und Castelli²⁾) und denen von Forssman³⁾ mit Meerschweinchen-

1) a. a. O.

2) a. a. O.

3) a. a. O.

Tabelle VI.
Weiße Mäuse, gespritzt mit Mäuseblutambozeptor.

| Maus No. | Gewicht g | Behandlung | | | Erscheinungen | Tod nach |
|----------|-----------|--------------------------|-----------|------------------------|--|------------|
| | | Injektionsgut | Dosis ccm | Ort | | |
| G 56 | 22 | Mäuseblutambozeptor G 21 | 0,05 | rechte Karotis zentral | — | 22 Min. |
| G 57 | 21 | dgl. | 0,05 | dgl. | — | sofort |
| G 58 | 20 | „ | 0,1 | iv. | — | sofort |
| G 59 | 20 | „ | 0,05 | iv. | — | sofort |
| G 60 | 20 | „ | 0,01 | linke Karotis zentral | Rollbewegungen, Zwangshaltung in Linkskonvexität mit abgestreckten Extremitäten. | 3 1/2 Std. |
| G 61 | 20 | „ | 0,01 | iv. | — | 3 Tage |
| G 62 | 24 | „ | 0,02 | iv. | — | 6 Std. |

niere und Friedberger und Oshikawa¹⁾ (Blutkörperchen, Gehirn) bei für das Meerschweinchen karotal-zentral giftigen Seris haben wir entsprechende Versuche auch mit dem für Mäuse karotal-zentral besonders wirksamen Ambozeptor No. 100 angestellt.

Friedberger und Oshikawa haben gezeigt, daß aus einem karotal-zentral giftigen Anti-(Hammel-)Serum wohl durch Hammel- bzw. Ziegenblut, nicht aber durch Menschen- und Rinderblut, die giftige Quote aus dem Serum adsorbiert wird.

Ein analoger Versuch wurde bei der Maus angestellt.

0,66 ccm Ambozeptor No. 100 in 2 ccm Volum wurde 3mal mit dem Sediment von 1 ccm 3mal gewaschenem Hammelvollblut 1 Stunde bei 37° digeriert. 0,1 ccm des Abgusses löst 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung (Meerschweinchenkomplement) nicht mehr.

Das Hämolysin ist also mindestens zum größeren Teil adsorbiert. Trotzdem wirkte die an sich tödliche Minimaldosis (0.05 ccm) noch nach wie vor giftig, wie der folgende Versuch zeigt.

Maus No. G 25 erhält 0,05 ccm ausgefallten Ambozeptor No. 100 in die rechte Karotis zentral. Das Tier bekommt nach 15 Minuten leichte

1) a. a. O.

Krämpfe. Bei Druck auf den Schwanz treten Manögebewegungen gegen den Uhrzeiger auf. Nach 3 Stunden ist das Tier tot.

Weitere Ausfällungsversuche wurden nun mit dem gleichen Serum und mit Mausorganen vorgenommen.

Nach den schon erwähnten Untersuchungen von Doerr und Pick¹⁾ binden nur Niere und Muskeln, nicht aber Gehirn und Leber (und Blutkörperchen), das Hammelhämolysin. Dementsprechend war zu erwarten, daß nach Kontakt mit Mausniere das Serum ungiftig wurde, nicht aber nach Ausfällung mit Mausgehirn und Mausleber. Das ist tatsächlich der Fall, wie die nachstehende Tabelle zeigt.

Es wurden je 2 ccm unverdünnter Ambozeptor mit je 0,5 g der betreffenden Organe verrieben, 1 Stunde bei 37° in Kontakt gelassen, dann zentrifugiert. Entsprechende Kontrollversuche mit Normalkaninchenserum und Mausorganen. Die Zentrifugate wurden auf ihre Giftigkeit ausgewertet.

Tabelle VII.

Weißer Weißer, gespritzt mit heterogenetischem Ambozeptor, der mit Mäuseorganen ausgefällt ist.

| Maus No. | Gewicht g | Behandlung | | | Erscheinungen | Tod nach |
|----------|-----------|--|-----------|------------------------|---|----------|
| | | Injektionsgut | Dosis ccm | Ort | | |
| G 35 | 15 | heterog. Ambozeptor No. 100, ausgefällt mit Gehirn | 0,1 | rechte Karotis zentral | linke Seitenlage, Manögebewegungen gegen den Uhrzeiger, Rollbewegungen links | 60 Std. |
| G 37 | 15 | heterog. Ambozeptor No. 100, ausgefällt mit Leber | 0,1 | dgl. | 1/4 Std. lang linke Seitenlage, Manögebewegung gegen den Uhrzeiger, dann normal | 80 Std. |
| G 34 | 19 | heterog. Ambozeptor No. 100, ausgefällt mit Niere | 0,1 | „ | — | 48 Std. |
| G 39 | 20 | Normal-Kaninchenserum, ausgefällt mit Leber | 0,1 | „ | — | 65 Std. |
| G 40 | 20 | Normal-Kaninchenserum, ausgefällt mit Niere | 0,1 | „ | — | 65 Std. |
| G 38 | 25 | Normal-Kaninchenserum, ausgefällt m. Gehirn | 0,1 | „ | — | 6 Tage |

1) a. a. O.

Zusammenfassung.

In Fortsetzung der Versuche von Friedberger und Oshikawa wurde der Einfluß der karotal-zentralen Einspritzung von Antigenen bei Versuchstieren weiter untersucht.

1) Versuche an Meerschweinchen:

a) Ein Kaninchen-Antimeerschweinchenblutserum wirkt karotal-zentral typisch, obwohl in der Blutbahn bereits eine Absättigung der Ambozeptoren zu erwarten wäre.

b) Durch Ausfällung mit Meerschweinchenblut, nicht aber mit Meerschweinchenniere wird es ungiftig.

c) Neben den von Friedberger und Oshikawa untersuchten Normalseris (Kaninchen, Rind, Aal) löste auch das Schweineserum, nicht aber das Hammelserum bei karotal-zentraler Einspritzung typische Symptome aus.

d) Gramnegative Bakterien (Prodigiosus, OX 19) waren auch in größten Dosen karotal-zentral wirkungslos.

2) Versuche an Kaninchen:

Normales Schweine- und Rinderserum wirken auch beim Kaninchen karotal-zentral giftig unter Auslösung typischer Symptome.

3) Versuche an der Maus:

a) Bei der Maus ist normales Rinderserum und Schweineserum karotal-zentral typisch wirksam, Kaninchenserum unwirksam.

b) Auch Antihammelblutserum wirkt bei der Maus karotal-zentral typisch.

c) Antimausblutserum vom Kaninchen wirkt gleichfalls karotal-zentral.

d) Durch Ausfällung mit Hammelblut wird der giftige Antihammelblutambozeptor im Gegensatz zum Verhalten beim Meerschweinchen für die Maus nicht entgiftet, ebensowenig durch Mausgehirn und -leber, wohl aber durch Mausniere und -muskel. Es entspricht das der Verteilung der hammelhämolysinbindenden Gruppen auf die einzelnen Organe bei dieser Tierspezies.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald.]

**Das Verhalten monogen-polyerger heterogenetischer Sera
bei der passiven Anaphylaxie¹⁾.**

(Ueber Anaphylaxie. LXIV. Mitteilung.)

Von **E. Friedberger** und **V. Scimone**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. September 1922.)

In einer vorausgegangenen Arbeit mit G. Meißner²⁾ war gezeigt worden, daß in präzipitierenden monogen-polyergen (heterogenetischen) Seris sich nicht nur der Typus der homologen (isogenetischen) Präzipitate von dem der heterogenetischen unterscheidet, sondern daß auch nur an die ersteren die Funktion der Komplementablenkung geknüpft ist.

Es war nun von erheblichem Interesse, das Verhalten solcher übergreifender Sera bei der passiven Anaphylaxie einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen.

Zwei strittige Fragen konnten hier der Lösung näher gebracht werden: erstens die Frage der Beteiligung des Komplements und zweitens, damit im Zusammenhang, die Frage der Entstehung des anaphylaktischen Shocks überhaupt. Die Beteiligung des Komplements bei der Anaphylaxie ist gegenüber den Einwänden von Loewit und Bayer³⁾ sowie Busson und Takahashi^{4) 5)} durch Friedberger und Cederberg^{6) 7)} regelmäßig bei der Anaphylaxie festgestellt

1) Vorgetragen in der Berlin. Mikrobiol. Ges., Sitzung vom 9. X. 1922.

2) Friedberger und Meißner, diese Zeitschr., Bd. 36, Heft 2,3.

3) Loewit und Bayer, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. 69, 1912, S. 375.

4) Busson und Takahashi, Centralbl. f. Bakt., Bd. 65, 1912, S. 146.

5) Busson, ebenda, Bd. 70, 1913, S. 416.

6) Friedberger und Cederberg, Centralbl. f. Bakt., Bd. 72, 1913, S. 385.

7) A. Cederberg, Studien über Anaphylaxie mit besonderer Berücksichtigung der Rolle des Komplements bei der Anaphylatoxinbildung in vivo und in vitro. Helsingfors, Buchdruckerei A.-G. Sana, 1914.

worden¹⁾; sie ist auch in den Versuchen an isolierten Organen [Friedberger und Mita²⁾, Schulz, Dale u. a.] nie ganz auszuschalten. Bei der Anaphylatoxinbildung in vitro, wo die Beteiligung des Komplements unter durchsichtigeren Bedingungen statthat, ist sie überhaupt nie ernstlich bestritten worden.

Wenn nun tatsächlich das Komplement bei der aktiven und passiven Anaphylaxie, wie einige Autoren meinen, keine essentielle Rolle spielt, so war zu erwarten, daß ein monogen-polyerges Serum mit starker heterogenetischer Quote sowohl gegen das isogenetische wie gegen das heterogenetische Präzipitin passiv präparierte, denn die Komplementbindung, die hier in vitro und dementsprechend auch wohl in vivo ausbleibt, sollte ja ohne Einfluß auf die Anaphylaxie sein. Es war nicht einzusehen, weshalb die passive Anaphylaxie dann gegenüber dem heterogenetischen Antigen nicht auch auftrate, denn die angeblichen Störungen des kolloidalen Gleichgewichts mit ihren vermeintlichen konsekutiven Folgen (Fällungen, Wandbelägen in den Kapillaren usw.), die bei der Reinjektion nach einigen Autoren (Sachs, Schmidt, Doerr, Kopa-czewski usw.) auftreten und die anaphylaktischen Symptome bedingen sollen, mußten sich ja entsprechend der Präzipitation in vitro auch gegenüber dem heterogenetischen Antigen geltend machen.

Zur Entscheidung der vorliegenden Frage haben wir Meerschweinchen mit einem präzipitierenden Antihundekaninehenserum, das auf Katze gleich weit übergriff, behandelt.

1) Doerr weist in seinem jüngsten Sammelreferat darauf hin, daß in der Arbeit von Friedberger und Cederberg in 2 Fällen ihrer Tabellen sogar durch die anaphylaktische Reaktion eine Vermehrung des Komplementtiters eingetreten sei, während bei der Berechnung in einem folgenden Stabe der Tabellen ein Verlust verrechnet werde, der sich auch dann nicht erklären lasse, wenn eine versehentliche Vertauschung der Titerzahlen vorliege. Nun offenbar handelt es sich bei diesen beiden abweichenden Ergebnissen unter 45 Versuchen um einen Druckfehler, wie das ja die Werte der letzten Kolumne ohne weiteres erkennen lassen. Aus Tabelle IV auf S. 231 der Dissertation Cederberg läßt es sich direkt nachweisen, daß sich hier lediglich ein Druckfehler eingeschlichen hat, indem es statt 0,019 0,014 heißen muß, wie dort richtig vermerkt ist. Auch im zweiten Falle dürfte sich die Diskrepanz durch einen Druckfehler aufklären, was leider nicht mehr festzustellen ist.

2) Friedberger und Mita, diese Zeitschr., Bd. 10, 1911, S. 362.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 36.

26

Vorbehandlung des Kaninchens:

Kaninchen No. 2, Gewicht 2200 g, Einspritzung mit Hundeserum intravenös.

Tabelle I.

| Datum | Dosis | Titer | |
|--------------|-------|-----------------|---------------|
| | | für Hund | für Katze |
| 5. VIII. 22 | 1 ccm | 1:1000 | 1:1000 |
| 9. VIII. 22 | 1 ccm | | |
| 14. VIII. 22 | 1 ccm | | |
| 23. VIII. 22 | 1 ccm | 1:20 000 locker | 1:20 000 fein |
| 31. VIII. 22 | 1 ccm | | |

1. IX. 22 entblutet.

Die Präzipitation für Hund war ausgesprochen locker, für Katze fein.

Die Komplementablenkung mit diesem Antiserum und den beiden Antigenen zeigt die folgende Tabelle.

Tabelle II.

Komplementablenkung mit Hundeantiserum No. 2.

kompl. = komplette Hämolyse, 0 = keine Hämolyse.

| Hunde- antiserum 1:10 | Antigen Hundeserum Vol. 1 ccm | Kom- plement | Ambo- zeptor 1 1/2 fach lös. Dos. | Hammelblut- körperchen 5 ‰ | Hämolyse Ablesung nach 1/2 Std. 37° |
|-----------------------------|-------------------------------------|-----------------|--|----------------------------------|---|
| 1,0 ccm | 1:100 | 0,05 ccm | 1 ccm | 1 ccm | 0 |
| dgl. | 1:1000 | dgl. | dgl. | dgl. | 0 |
| " | 1:10 000 | " | " | " | 0 |
| " | 1:100 000 | " | " | " | kompl. |
| " | 1:1 000 000 | " | " | " | " |
| 2,0 " ccm | — | " | " | " | " |
| — | 1:100 2 ccm | " | " | " | " |
| — | — | " | — | " | 0 |
| — | — | — | 1 ccm | " | 0 |
| Antigen Katzenserum | | | | | |
| 1,0 ccm | 1:100 | 0,05 ccm | 1 ccm | 1 ccm | kompl. |
| dgl. | 1:1000 | dgl. | dgl. | dgl. | " |
| " | 1:10 000 | " | " | " | " |
| " | 1:100 000 | " | " | " | " |
| " | 1:1 000 000 | " | " | " | " |
| — | 1:100 | " | " | " | " |

1 Std. 37°

Das Serum verhielt sich also genau wie die in der vorigen Arbeit mit G. Meißner beschriebenen. Es präzipitierte Hund und Katze gleich stark, jedoch in den beiden bekannten ver-

schiedenen Typen, und es ergab bei der obigen Versuchsanordnung Komplementablenkung nur mit dem locker präzipitablen homologen Antigen.

Mit diesem Serum wurden nun 12 Meerschweinchen von einem Gewicht zwischen 190 und 260 g mit je 1 ccm intraperitoneal präpariert und 24 Stunden später die giftige Dosis des isogenetischen und heterogenetischen Antigens ermittelt. Dabei wurden die Tiere der Schwere nach so gruppiert, daß immer je 2 Tiere des gleichen Gewichtes für die beiden Antigene zur Verfügung standen, so daß die Gewichtsunterschiede in der Gesamtheit der Tiere nicht weiter störten.

Das Ergebnis der Reinjektion mit den beiden Antigenen zeigt die Tabelle III auf S. 390.

Aus der Tabelle ergibt sich mit aller Deutlichkeit, daß durch die Vorbehandlung mit dem monogenen, polyergen Antihundekaninchenserum bei Meerschweinchen eine Präparierung nur für Hunde-eiweiß, nicht aber für Katze-eiweiß eingetreten ist. Während 1 ccm Hundeserum vom normalen Meerschweinchen von 200 g ohne nennenswerte Symptome vertragen wird, bedingt 0,01 bis 0,0075 bei den mit unserem Antiserum präparierten Tieren die schwersten Erscheinungen, ja akuten Tod. Demgegenüber sind die in gleicher Weise präparierten gleich schweren Tiere gegenüber 100fach größeren Dosen von Katzenserum vollkommen unempfindlich.

Gegenüber diesen Versuchen wäre noch der Einwand möglich, daß vielleicht das Katzenserum an sich auch bei mit homologem Kaninchenantiserum präparierten Meerschweinchen weniger wirksam ist als das Hundeantigen. Es wurden deshalb noch 4 Meerschweinchen (Gewicht 210—225 g) mit je 0,5 ccm einer Mischung monogenen (monoergen) Antikatzenserums H 27 und Antihundekaninchenserums H 65 passiv präpariert und diese Tiere 24 Stunden später mit normalem Hunde- bzw. Katzenserum intravenös reinjiziert.

Die Tiere zeigten deutliche Symptome der Anaphylaxie und beträchtlichen Temperatursturz unabhängig von dem Antigen (Katze, Hund), und zwar für beide Antigene in gleichem Grade.

An sich ist danach das Meerschweinchen gegenüber dem Katze-eiweiß für passive Anaphylaxie genau so empfindlich

Tabelle III.

| No. | Ge- wicht g | Vor- behandlung mit mono- genem Anti- serum | Re- injektion nach Stunden | Reinjek- tions- antigen und Dosis | Tod nach | Symptome |
|-----|-------------------|---|-------------------------------------|--|-------------|--|
| 4 | 260 | 1 cem Hunde- A.-S. ip. | 24 | 1 cem Hunde- serum iv. | 50 ' | Typische Krämpfe, verlang- samte Atmung, Seiten- lage |
| 10 | 225 | dgl. | 24 | 0,2 cem iv. | 6 ' | Schnupern, Kratzen, schwere Dyspnoe, Sprün- ge, Krämpfe |
| 5 | 230 | " | 24 | 0,1 cem iv. | 5 ' | Sofort Schnupern, Krat- zen, Sprünge, schwere Krämpfe, Seitenlage |
| 8 | 210 | " | 24 | 0,05 cem iv. | 5 ' | Sprünge, Krämpfe, schwere Dyspnoe, Seitenlage |
| 12 | 230 | " | 24 | 0,01 cem iv. | ∞ | Sofort Urinabgang, Krat- zen, Fellsträuben, leichte Krämpfe. Temperatur- sturz bis 35,8. Dann er- holt sich das Tier |
| 6 | 190 | " | 28 | 0,01 cem iv. | ∞ | Kratzen, Krämpfe, Seiten- lage, Hinterbeine ge- spreizt. Schwere At- mung. Nach 50 Min. Temp. 31,2. Ueberlebt |
| 2 | 190 | " | 28 | 0,0075cem iv. | 18 Std. | Kratzen, Fellsträuben, schwere Atmung, matt. Temperatur nach 40 Min. 34,8 |
| 1 | 190 | " | 48 | 0,05 cem ip. | ∞ | Keine sichtbaren Erschei- nungen. Temp. 38,4, nach 35 Min. 36,0. Ueberlebt |
| 7 | 250 | " | 48 | 0,05 cem ip. | ∞ | Keine sichtbaren Erschei- nungen. Temp. 38 0, nach 50 Min. 36,2. Ueberlebt |
| 13 | 200 | — | | 1 cem iv. (Kon- trolle) | ∞ | keine Erscheinungen |
| 9 | 230 | 1 cem Hunde- A.-S. ip. | 24 | 0,2 cem Katzen- serum iv. | ∞ | keine Erscheinungen |
| 3 | 260 | dgl. | 24 | 0,5 cem Katzen- serum iv. | ∞ | keine Erscheinungen |
| 11 | 190 | " | 24 | 0,75 cem iv. | ∞ | keine Erscheinungen |
| 14 | 200 | — | | 1 cem iv. (Kon- trolle) | ∞ | Etwas Unruhe, Schnup- pern. Sonst keine Er- scheinungen |

wie gegenüber dem Hundeeiweiß. Es liegen auch nach den zahlreichen Angaben in der Literatur über aktive Anaphylaxie keinerlei Anhaltspunkte dafür vor, daß sich hier Katzeneiweiß und Hundeeiweiß verschieden verhalten.

Wir haben also die Tatsache, daß nur jenes Präzipitin, dem komplementbindende Fähigkeit zukommt, imstande ist, in der Versuchsanordnung der passiven Anaphylaxie zu präparieren. Das ist ein neues wichtiges Argument für die essentielle Bedeutung des Komplements im anaphylaktischen Shock. Mit jener Theorie aber, die die Anaphylaxie lediglich mit physikalischen Momenten zu erklären sucht, sie als „gewöhnliche kolloidale Flockung“ auffaßt (Kopaczewski, Schmidt u. a.) ist dieses Ergebnis kaum zu erklären, denn die Flockung, die wir mit heterogenetischem Antigen in vitro in gleicher Stärke wie mit dem isogenetischen sehen, müssen wir ja hier wie dort auch im Tierkörper annehmen, und damit müßten wir nach passiver Präparierung bei Reinjektion des Heteroantigens die gleichen Symptome erwarten wie mit dem Isoantigen.

Man könnte noch einwenden, daß der Dispersitätsgrad der Flockungen bei dem Heteropräzipitat ja ein anderer ist als bei dem Isopräzipitat, und daß deswegen Heteropräzipitate weniger als die Isopräzipitate „eine Art Keimzentren bilden“, an welchen Neuanlagerungen von Globulinteilchen, Blutplättchen, Leukozyten, Fibrin usw. stattfinden, so daß auf diese Weise „Stauungen mit sekundärer Hyperämie, Lungenödem, Lungenschwellung, Dyspnoe“, also die Symptome der Anaphylaxie entstehen.

Aber wenn dem auch teilweise so wäre, so müßte eine gewisse Wirkung doch auch den Heteropräzipitaten zukommen, zumal sie die gleiche negative Ladung haben wie die isogenetischen [Friedberger und Putter¹⁾] und sich auch optisch im Ultraviolettpektrum gleich verhalten [Friedberger und Lasnitzky²⁾]. Wir sehen aber, daß bei den passiv präparierten Tieren das 100fache Multiplum der tödlichen Dosis des isogenetischen Antigens vom heterogenetischen unwirksam war, obgleich die Präzipitation bis zur gleichen Verdünnung erfolgte.

1) Friedberger und Putter, diese Zeitschr., im Ersch.

2) Friedberger und Lasnitzky, Klin. Wochenschr., 1922, No. 32.

Diese Versuche sprechen also wiederum entschieden gegen die rein physikalische Theorie der Anaphylaxie, deren Widerlegung gegenüber den Ausführungen von Schmidt¹⁾, Ritz und Sachs²⁾, Nathan³⁾, Kopaczewski⁴⁾, Dold⁵⁾ usw. uns in den Arbeiten von Friedberger und Joachimoglu⁶⁾, Loewit⁷⁾, Friedberger⁸⁾, Friedberger und Putter⁹⁾ bereits gegeben zu sein scheint.

Unsere Versuche stehen nun in scheinbarem Widerspruch mit früheren von Doerr und Ruß¹⁰⁾. Diese präparierten passiv mit einem Antihammeleiweißserum, das Hammel und Ziege bis 20 000, Rind bis 12 000, Schwein bis 2000, Mensch bis 100, Pferd bis 100, Huhn $< 1/50$ präzipitierte. Während nun unser Antihundeserum Hund und Katze gleich stark bis $1/20000$ präzipitierte, aber für Katze nicht präparierte, fanden Doerr und Ruß, daß ihr Antihammelserum nicht nur für die verwandten Antigene Ziege und Rind, sondern auch für Schwein, Mensch und Pferd passiv präparierte, und zwar proportional dem Präzipitationsvermögen.

Wenn wir nun die Protokolle der Autoren einer genauen Durchsicht unterziehen, so ergibt sich, daß diese Versuche wegen mangelnder Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse für diese Frage gar nicht ernstlich in Betracht kommen und daher auch mit unseren Ergebnissen nur scheinbar in Widerspruch stehen. Die Autoren haben nämlich zur Reinjektion von dem fernstehenden Schweineserum als tödliche Dosis 1,0 ermittelt, während sie mit Menschenserum bei dieser Dosis nicht einmal Tod, sondern nur „schwere Symptome“, mit Pferdeserum bei

1) Schmidt, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 83, 1917, S. 89. — Schmidt und Schürmann, ebenda, Bd. 86, 1918, S. 195.

2) Ritz und Sachs, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 86, 1918, S. 235.

3) Nathan, diese Zeitschr., Bd. 18, 1913, S. 636.

4) Kopaczewski, verschiedene Veröffentlichungen, zit. diese Zeitschrift, Bd. 30, 1920, S. 318, Fußnote 2.

5) Dold, Arch. f. Hyg., Bd. 89, 1920, S. 101.

6) Friedberger und Joachimoglu, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 84, 1917, S. 336.

7) Loewit, diese Zeitschr., Bd. 27, 1918.

8) Friedberger, diese Zeitschr., Bd. 30, 1920, S. 275.

9) Friedberger und Putter, diese Zeitschr., Bd. 30, 1920, S. 321.

10) Doerr und Ruß, diese Zeitschr., Bd. 3, 1909, S. 181.

der doppelten Dosis „deutliche Symptome“ beobachteten. Es handelt sich aber hier um Mengen, die an sich schon für das unpräparierte Meerschweinchen schwer giftig, ja tödlich sind.

Wenn bei mit Hammelantiserum passiv präparierten Meerschweinchen nach Reinjektion von 1,0 Menschenserum und 0,6 Hammelserum intravenös lediglich „schwere Symptome, erholt sich“ registriert ist, so können diese Ergebnisse nicht, wie es von Doerr und Ruß geschieht, auf den Gehalt des passiv präparierenden Antiserums an (heterogenetischem) Präzipitin zurückgeführt werden, sondern diese Dosen entsprechen ganz einfach den für das normale Meerschweinchen krankmachenden, ja tödlichen Dosen der betreffenden Antigene. Hat doch Syrenskij¹⁾ in seinen sorgfältigen Untersuchungen „Ueber die primäre Toxizität des Blutserums des Menschen im Verlaufe von Infektionskrankheiten“ festgestellt, daß

„für 100 g Körpergewicht des Meerschweinchens die tödliche Dosis bei einmaliger intravenöser Injektion zwischen 0,5 und 0,6 ccm liegt. Die Erscheinungen, welche nach der Injektion beobachtet wurden, waren denjenigen des anaphylaktischen Shocks sehr ähnlich. Der Tod des Tieres trat gewöhnlich innerhalb einiger Minuten ein. Das Bild, welches die pathologisch-anatomische Sektion bot, unterschied sich in keiner Weise von demjenigen, das bei Anaphylaxie beobachtet wird.“

Auch vom normalen Schweineserum ist unter Umständen schon 0,75 ccm die akut tödliche Dosis. Daß für das bei Meerschweinchen an sich wenig giftige Pferdeserum bei der hohen Dosis von 2,0 ccm deutliche Symptome registriert werden, will wohl auch nicht allzuviel besagen.

Es ist schwer verständlich, wieso Doerr und Ruß ohne entsprechende Kontrollen aus der Verabfolgung solcher Dosen ihre Schlüsse ziehen, und dazu auch noch aus einer derartigen Versuchsreihe folgerten, daß „bei quantitativem Arbeiten die Serumanaphylaxie ebensogut spezifisch ist, wie andere Immunreaktionen“. Die Versuche kommen als Material für das vorliegende Problem nicht in Frage.

Zusammenfassung.

Untersuchungen an einem monogen-polyergen heterogenetischen Serum ergaben, daß bei der passiven Ana-

1) Sirenskij, diese Zeitschr., Bd. 20, 1914, S. 543.

phylaxie nur derjenige Teil des Präzipitins, der locker präzipitiert und Komplement ablenkt, also der isogenetische, präpariert, während das heterogenetische Präzipitin, das bei der Komplementablenkung nach früheren Untersuchungen von Friedberger und Meißner nicht oder kaum beteiligt ist, auch kein passives Präparierungsvermögen besitzt. Diese Tatsache ist ein weiteres Argument für die essentielle Bedeutung des Komplements bei der Anaphylaxie. Sie ist mit der Auffassung nicht vereinbar, wonach es sich bei dem anaphylaktischen Shock lediglich um intravasale Flockungen mit konsekutiven Kreislaufstörungen handelt.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut Osaka (Direktor:
Prof. A. Sata; Abteilungsvorsteher: Prof. Y. Fukuhara).]

**Ueber das Bakteriengift, insbesondere die löslichen Gifte
des Dysenterie-, Typhus- und Paratyphusbazillus.**

(III. Mitteilung.)

Von Dr. **Masaaki Yoshioka.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. Juli 1922.)

Einleitung.

Ueber das Dysenteriegift, das in flüssigen Nährböden erhalten wird, haben schon viele Autoren Untersuchungen angestellt. Die stärksten Gifte, die Kraus und Doerr erhielten, töteten in Dosen von 0,01 ccm 1000 g schwere Kaninchen bei intravenöser Injektion innerhalb 2 Tagen. Klein und Schottelius geben als Dosis letalis minima ihres Giftes 0,02 bis 0,03 ccm an, Kolle, Heller und de Mestral 0,05 ccm, Inomata 0,001 ccm.

Untersuchungen über das lösliche Typhusgift haben Chantemesse, Moreschi, Kraus und Stenitzer u. a. veröffentlicht. Aber die Gifte, welche sie hergestellt haben, sind nicht besonders stark. Dosis letalis minima des stärksten Giftes, welches Kraus und Stenitzer bekommen haben, ist für Kaninchen 0,5 ccm.

Was das Paratyphusgift betrifft, so seien die Mitteilungen von Brion und Kayser, Franchetti und Yamanouchi erwähnt. Yamanouchi gewann das stärkste Gift, das für Kaninchen bei intravenöser und intraperitonealer Einimpfung von 0,5 ccm pro Kilogramm tödlich wirkte, während Biward, Brion und Kayser bei dem Paratyphus A in Bouillonkultur keine Giftwirkung festgestellt haben.

Die Gifte haben also, abgesehen vom Dysenteriegift, keine stärkere Wirkung für die Versuchstiere, besonders bei dem Paratyphus A konnte eine Giftwirkung nicht festgestellt werden. Es war die Frage, ob sich nicht doch unter gewissen Bedingungen stärkere Gifte gewinnen ließen. Ich habe dahingehende Versuche angestellt und mir zugleich vorgenommen, die pathogenetische Bedeutung dieser Gifte sowie ihre antigenen Eigenschaften näher zu erforschen.

Meine Versuche beziehen sich: 1) darauf, ob diejenigen Stämme besonders starkes Gift produzieren, die auf flüssigen Nährböden eine Kahmhaut bilden. Es ist bekannt, daß Diphtheriebazillen um so mehr Toxin produzieren, eine je üppigere Kahmhaut sie bilden. Kraus und Doerr zeigten, daß auch bei Dysenteriebazillen das Verhältnis zwischen der Toxinproduktion und der Kahmhautbildung eine große Rolle spielt. 2) Auf die Wahl der Stämme. Die Wahl der Stämme ist auch ein Haupterfordernis für die Ergiebigkeit der Giftproduktion. Das wissen wir von Diphtherie-, Tetanus- und Dysenteriebazillen. 3) Das Verhältnis zwischen der Reaktion des Nährmediums und der Giftproduktion. Viele Autoren empfehlen eine alkalische Reaktion. Ich habe verschiedene Reaktionen angewandt und die dabei erfolgende Toxinproduktion verglichen. 4) Das Verhältnis zwischen der chemischen Zusammensetzung des Mediums und der Giftproduktion. Meine hergestellten Nährböden waren: a) Fukuharasche Lösung, d. h. Prof. Fukuharas Präparat, der modifizierte Nährboden nach Martin. b) Essigsäurefleischwasser. Nach Hida setzte ich dem Fleisch Essigsäure zu und habe bestimmte Zeit gekocht, um das Glykogen zu spalten. c) Normale Bouillon, der Witte-Pepton oder Shiono-Pepton zugesetzt war, und d) die beschriebenen Lösungen in verschiedenen Mengen gemischt. 5) Das Verhältnis zwischen Kulturdauer und Giftproduktion.

Typhusbazillen.

I. Der Einfluß der Reaktion des Nährmediums auf Kahmhautbildung und Bakterienentwicklung.

Die Nährböden sind 1-proz. Peptonbouillon Gehe. Die Reaktion des Nährmediums wurde teils neutral gewählt, teils alkalisch und sauer, der Säure- und Alkaligehalt wieder abgestuft 2, 4 und 6 Grad. (Alkali- bzw. Säuregrad entspricht dem Zusatz von cem Normallösung NaOH bzw. HCl pro 1 Liter Flüssigkeit nach Neutralisation gegen Phenolphthalein.)

Auf jedem Nährboden habe ich 24 verschiedene Typhusstämmen vielmals fortgezüchtet, um den Zustand des Wachstums und der Kahmhautbildung der Bakterien zu prüfen. Das Resultat war, daß die saure Reaktion für die Kahmhaut-

bildung und das Wachstum günstiger war als die neutrale und alkalische. Je größer der alkalische Grad ist, desto schlechter sind Kahlhautbildung und Wachstum der Bakterien. Je höher dagegen der Säuregrad ist, desto besser sind Kahlhautbildung und Bakterienwachstum. Typhusbazillen bilden im allgemeinen in Bouillon keine Kahlhaut. Züchtet man aber von der Oberfläche einer Bouillonkultur einige Generationen weiter, so kann man die Typhusbazillen zu einem häutchenartigen Wachstum bringen. Doch lassen sich dabei niemals gleichbleibende Resultate erzielen. Bei dem einen Stamm ist die Kahlhaut dicker, bei dem anderen dünner.

II. Die Toxizität des Kulturfiltrates der Stämme, die eine gute Kahlhaut bilden.

Ich habe drei Stämme ausgewählt, die eine Kahlhaut besser als andere gebildet haben. Der Nährboden ist 10-proz. Peptonbouillon Gehe. Die Alkaleszenz wurde in der oben erläuterten Weise abgestuft. Die drei nach der Kahlhautbildungsmethode ausgewählten Stämme habe ich 2, 4, 6 und 8 Tage im Brutofen gelassen, dann zentrifugiert, dann den oberen hellen Teil abgenommen. Dieser wurde mit 0,5-proz. Karbolsäure versetzt und auf 24 Stunden in den Eisschrank gestellt, dann zur Prüfung verwandt. Das Körpergewicht der für die Versuche gebrauchten Meerschweinchen betrug 200 bis 250 g. Die Einspritzung erfolgte intraperitoneal. (S. Tabelle I auf S. 398).

Die obigen Versuche zeigen, daß die wirksamste Lösung in Menge von 1 ccm Versuchstiere nach einem Tage tötet, bei 0,5 ccm gingen sie erst nach 7 bis 8 Tagen zugrunde. Es scheint die alkalische Reaktion von 4 Grad und die saure von 4 Grad am günstigsten, als Kulturdauer 2 Tage am besten zu sein; doch läßt sich das aus nur einem Versuch an Meerschweinchen, die noch dazu recht widerstandsfähig gegen Typhusgift sind, nicht feststellen. Mit Rücksicht auf die letzt-erwähnte Tatsache habe ich die weitere Prüfung der wirksamen Stämme an Kaninchen vorgenommen.

III. Die Auswahl der wirksamen Stämme.

Ich züchtete zuerst viele Typhusstämmen in einem bestimmten Nährboden, und prüfte, welche Stämme das beste

Tabelle I.

| Name des Stammes | Kulturdauer Tage | Reaktion des Nährbodens | Injizierte Giftmenge | Resultat |
|------------------|------------------|-------------------------|----------------------|------------|
| Kojama | 2 | alkalisch 2° | 1,0 ccm | lebt |
| " | 4 | dgl. | dgl. | " |
| " | 6 | " | " | " |
| " | 8 | " | " | " |
| " | 2 | alkalisch 4° | " | 20 Std. † |
| " | 2 | dgl. | 0,5 ccm | lebt |
| " | 4 | " | 1,0 ccm | " |
| " | 6 | alkalisch 6° | dgl. | " |
| " | 8 | dgl. | " | 15 Tagen † |
| " | 6 | sauer 2° | " | lebt |
| " | 8 | dgl. | " | 18 Tagen † |
| " | 2 | sauer 4° | " | 1 Tag † |
| " | 2 | dgl. | 0,5 ccm | lebt |
| " | 4 | " | 1,0 ccm | " |
| " | 2 | sauer 6° | " | " |
| " | 4 | dgl. | " | " |
| " | 6 | " | " | " |
| " | 8 | " | " | " |
| 31 | 2 | alkalisch 2° | " | " |
| " | 4 | dgl. | " | " |
| " | 6 | " | " | " |
| " | 8 | " | " | " |
| " | 2 | alkalisch 4° | " | 4 Tagen † |
| " | 2 | dgl. | " | 2 Tagen † |
| " | 2 | dgl. | 0,5 ccm | 8 Tagen † |
| " | 4 | " | 1,0 ccm | lebt |
| " | 6 | alkalisch 6° | dgl. | " |
| " | 8 | dgl. | " | 18 Tagen † |
| " | 6 | sauer 2° | " | lebt |
| " | 8 | dgl. | " | " |
| " | 2 | sauer 4° | " | 4 Tagen † |
| " | 2 | dgl. | 0,5 ccm | lebt |
| " | 4 | " | 1,0 ccm | " |
| " | 2 | sauer 6° | dgl. | 5 Tagen † |
| " | 4 | dgl. | " | 2 Tagen † |
| " | 4 | " | 0,5 ccm | lebt |
| " | 6 | " | 1,0 ccm | " |
| " | 8 | " | dgl. | " |
| Arimal | 2 | alkalisch 2° | " | " |
| " | 4 | dgl. | " | " |
| " | 6 | " | " | " |
| " | 8 | " | " | 2 Tagen † |
| " | 2 | alkalisch 4° | " | 1 Tag † |
| " | 2 | dgl. | 0,5 ccm | 7 Tagen † |
| " | 4 | " | 1,0 ccm | lebt |
| " | 6 | alkalisch 6° | dgl. | " |
| " | 8 | dgl. | " | 11 Tagen † |
| " | 6 | sauer 2° | " | lebt |
| " | 8 | dgl. | " | " |
| " | 2 | sauer 4° | " | 1 Tag † |
| " | 2 | dgl. | 0,5 ccm | lebt |
| " | 4 | " | 1,0 ccm | " |
| " | 2 | sauer 6° | dgl. | " |
| " | 4 | dgl. | " | " |
| " | 6 | " | " | " |
| " | 8 | " | " | 1 Tag † |
| " | 8 | " | 0,5 ccm | lebt |

Gift in dem Nährboden produzierten; dann habe ich mit dem besten Stamm verschiedene weitere Versuche angestellt. Der Nährboden, welcher zu der Auswahl des Stammes zunächst benutzt wurde, war eine gemischte Lösung aus gleichen Mengen Fukuharascher Lösung und Wittescher Peptonbouillon. Die Reaktion des Nährbodens war alkalisch (2 Grad). So in größeren Mengen hergestellter Nährboden wurde auf mehrere gleichgroße Kolben in gleichen Mengen verteilt. Ich habe nach der gewöhnlichen Methode ohne Kahmhautbildungsmethode 20 Typhusstämmen kultiviert. Nach 2 Wochen habe ich jede

Tabelle II.

| Name des Stammes | Körpergewicht d. Kaninch. | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
|------------------|---------------------------|--------------------|---|
| Shimisudani | 2280 | 0,5 | 4 Std. †. Lungen, Leber, Milz und Nieren hyperämisch |
| 736 " | 2450 | 0,3 | lebt |
| 33 " | 2250 | 0,5 | lebt |
| Arima I | 1700 | 0,5 | lebt |
| Takeda | 2300 | 0,5 | lebt |
| | 2000 | 0,5 | in 15 Tagen †. Diarrhöe, Blutungen im Dünndarm, Blutungen und Geschwürbildung der Peyerschen Drüsen, Blutungen der Nieren, Nieren hyperämisch |
| 831 | 2000 | 0,5 | in 2 Tagen †. Keine Veränderung |
| Matumoto | 2100 | 0,5 | " 3 " †. Dünndarm und Lungen hyperämisch |
| Ueda | 2350 | 0,5 | in 4 Std. †. Lungen, Leber, Milz und Nieren hyperämisch |
| " | 2350 | 0,3 | in 12 Std. †. Diarrhöe, Dünndarm und Lungen hyperämisch. Blutungen der Milz und Nieren |
| " | 2050 | 0,2 | in 29 Std. †. Blutungen im Dünndarm. Schwellung und Blutung der Peyerschen Drüsen |
| Tanabe | 2000 | 0,5 | lebt |
| Arima II | 1800 | 0,5 | lebt |
| K 15 | 2050 | 0,5 | in 3 Tagen † |
| Tamagawa | 2150 | 0,5 | lebt |
| Kojama | 1800 | 0,5 | lebt |
| Hasagawa | 1700 | 0,5 | in 9 Tagen † |
| 1 | 2550 | 0,5 | " 42 Std. †. Paralyse, Krampf. Dünndarm, Milz und Lungen hyperämisch |
| 637 | 2050 | 0,5 | lebt |
| K 9 | 1800 | 0,5 | lebt |
| Jio | 1700 | 0,5 | in 5 Std. †. Milz, Nieren und Lungen hyperämisch. Blutung der Leber. |
| " | 2350 | 0,5 | lebt |
| Spring | 2850 | 0,5 | in 1 Std. †. Dünndarm und Blinddarm hämorrhagisch |
| E. 4 | 2550 | 0,3 | lebt |
| | 2400 | 0,3 | lebt |

Kultur durch ein Asbestfilter filtriert. Das Filtrat wurde mit Toluol versetzt, auf mehrere Tage in den Eisschrank gestellt und täglich einmal gut durchgeschüttelt. Danach erfolgte die intravenöse Impfung von Kaninchen mit dem Filtrat.

Aus der Tabelle II auf S. 399 ersieht man, daß 4 Stämme von 20 Stämmen mit 0,5 ccm pro Kilo innerhalb 1—5 Stunden die Tiere töteten. Der Stamm Ueda tötete mit 0,3 ccm pro Kilo in 12 Stunden.

IV. Vergleich der Giftproduktion des Stammes Ueda bei verschieden langer Züchtung und in Nährböden verschiedener Alkaleszenz.

Von 20 geprüften Stämmen war der wirksamste der Stamm Ueda. Mit diesem Stamm Ueda habe ich weitere Versuche angestellt. Dazu diente als Nährboden die gemischte Lösung aus gleichen Mengen Fukuharascher Lösung und Wittescher Peptonbouillon. Die Reaktion des Nährbodens wurde variiert (alkalisch 2 und 4 Grad, sauer 2, 20 und 25 Grad). In jedem Nährboden wurde der Stamm Ueda 2 oder 3 Wochen lang gezüchtet.

Wie die Tabelle III zeigt, ist die Kulturdauer von drei Wochen für die Giftbildung vorteilhafter als die von zwei Wochen. Was die Reaktion betrifft, so ist ein Säuregehalt entsprechend 2 Grad der günstigste.

V. Giftbildung in verschiedenen Nährböden.

Der vierte Versuch hatte gezeigt, daß eine Kulturdauer von 3 Wochen die beste ist. Daher wurde zum nächsten Versuch nur noch eine solche benutzt. Ich habe in diesem Versuch außer Stamm Ueda noch Stamm Iio, der im dritten Versuch auch gut wirksam war, benutzt. Die Reaktionen waren zum Teil alkalisch (2 und 4 Grad), zum Teil sauer (2, 4 und 8 Grad).

Als Nährböden wurden zur Prüfung benutzt:

- 1) Die gemischte Lösung aus gleichen Mengen Fukuharascher Lösung und Witte-Peptonbouillon.
- 2) Bouillon mit Zusatz von 2 Proz. Witteschem Pepton.
- 3) Essigsäure-Fleischwasser mit 2 Proz. Witteschem Pepton.

Tabelle IIIa.
Stamm Ueda. 2 Wochen alte Kultur.

| Körpergewicht des Kaninchens | Reaktion des Nährbodens | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
|------------------------------|-------------------------|--------------------|---|
| 2070 | alkalisch 4° | 0,5 | 2,5 Tagen †. Nieren, Nebennieren hyperämisch |
| 2400 | dgl. | 0,3 | lebt |
| 2150 | alkalisch 2° | 0,5 | 1 Std. †. Paralyse, Dyspnöe, Krampf. Hämorrhagien der Mesenterialdrüsen |
| 2100 | dgl. | 0,3 | 9 Tagen † |
| 2100 | dgl. | 0,2 | lebt |
| 2250 | sauer 2° | 0,5 | 25 Std. †. Krampf, Hyperämie und Hämorrhagien der Peyerschen Drüsen und des Dünndarmes |
| 2100 | dgl. | 0,3 | 22 Std. †. Dickdarm und Nieren hyperämisch. Blutungen und Oedem des Blinddarmes. Einige Petechien der Mesenterialdrüsen. Hyperämie und Hämorrhagien des Dickdarmes. Nieren, Nebennieren, Leber und Milz hyperämisch |
| 2000 | dgl. | 0,2 | 5 Tagen †. Lungen, Nieren und Nebennieren hyperämisch |
| 1900 | dgl. | 0,1 | 9 Tagen † |
| 1650 | sauer 20° | 0,5 | lebt |
| 1650 | sauer 25° | 0,5 | „ |

Tabelle IIIb.
Stamm Ueda. 3 Wochen alte Kultur.

| Körpergewicht des Kaninchens | Reaktion des Nährbodens | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
|------------------------------|-------------------------|--------------------|--|
| 3500 | alkalisch 4° | 0,5 | 1 Std. †. Hyperämie und Hämorrhagie des Blinddarmes. Nebenniere hyperämisch |
| 2400 | dgl. | 0,3 | lebt |
| 1970 | alkalisch 2° | 0,5 | „ |
| 2650 | dgl. | 0,3 | „ |
| 3000 | sauer 2° | 0,5 | 1 Stunde †. Thymusdrüsenblutung. Lungen und Nieren hyperämisch. Hyperämie und Hämorrhagie des Ileum und Dünndarmes |
| 2150 | dgl. | 0,3 | 2 Std. †. Blutungen der Thymusdrüsen. Lungen, Nieren hyperämisch. |
| 2250 | dgl. | 0,2 | 12 Std. †. Hyperämie und Hämorrhagie der Thymusdrüsen. Lunge, Nieren hyperämisch |
| 2500 | dgl. | 0,1 | lebt |
| 1900 | sauer 20° | 0,5 | Diarrhöe. Keine Veränderung. |
| 1950 | sauer 25° | 0,5 | lebt |

- 4) Bouillon mit 2 Proz. Shionoschem Pepton.
- 5) Essigsäure-Fleischwasser mit 2 Proz. Shionoschem Pepton.
- 6) Eine Lösung aus gleichen Mengen Fukuharascher Lösung und Shionoscher Peptonbouillon gemischt.

Tabelle IV a.
Stamm Ueda.

| | Körpergewicht des Kaninchens | Reaktion des Nährbodens | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
|---|------------------------------|-------------------------|--------------------|------------|
| 1. Nährboden: Fukuharasche Lösung + 1-proz. Wittepeptonbouillon | 2530 | alkalisch 4° | 0,3 | überlebt |
| | 2100 | dgl. | 0,2 | |
| | 2170 | alkalisch 2° | 0,2 | 1,5 Std. † |
| | 2370 | dgl. | 0,1 | 12 Tagen † |
| | 2130 | sauer 2° | 0,3 | 15 „ † |
| | 1860 | dgl. | 0,2 | überlebt |
| | 1810 | sauer 4° | 0,3 | 12 Tagen † |
| | 1930 | dgl. | 0,2 | überlebt |
| 2. Nährboden: 2-proz. Shionopectonbouill. | 2850 | sauer 2° | 0,3 | 2 Std. † |
| | 1820 | dgl. | 0,2 | 1,5 Std. † |
| | 1750 | „ | 0,1 | 2 Std. † |
| | 2150 | „ | 0,5 | überlebt |
| | 2040 | sauer 4° | 0,3 | 2 Std. † |
| | 2060 | dgl. | 0,2 | überlebt |
| 3. Nährboden: Fukuharasche Lösung + 1-proz. Shionopectonbouillon | 1700 | sauer 2° | 0,1 | überlebt |
| | 1810 | sauer 4° | 0,1 | 7 Tagen † |
| 4. Nährboden: 2-proz. Wittepeptonbouillon | 1750 | alkalisch 2° | 0,3 | 5 Std. † |
| | 1950 | dgl. | 0,2 | 8 Tagen † |
| | 1810 | sauer 2° | 0,3 | 12 Tagen † |
| | 2220 | dgl. | 0,2 | 12 „ † |
| 5. Nährboden: 2-proz. Wittepeptonbouillon + Essigsäurefleischwasser | 1980 | alkalisch 2° | 0,3 | 12 Tagen † |
| | 2220 | dgl. | 0,2 | überlebt |
| | 1770 | sauer 2° | 0,3 | 9 Tagen † |
| | 1840 | dgl. | 0,2 | überlebt |
| 6. Nährboden: 2-proz. Shionopect. + Essigsäurefleischwasser | 1880 | sauer 2° | 0,3 | 12 Tagen † |
| | 1800 | dgl. | 0,2 | überlebt |
| | 1780 | sauer 4° | 0,2 | 6 Std. † |
| | 1860 | dgl. | 0,1 | überlebt |

Aus der Tabelle IV kann man erkennen, daß der Stamm Ueda auf 2-proz. Shionoschem Peptonbouillon Nährboden bei 2 Grad saurer Reaktion am wirksamsten ist. Der Stamm Iio war auf dem Nährboden aus gemischter Lösung gleicher Mengen Fukuharascher Lösung und Witte-Peptonbouillon bei 4 Grad von saurer Reaktion am wirksamsten.

Tabelle IV b.
Stamm Iio.

| | Körpergewicht des Kaninchens | Reaktion des Nährbodens | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
|---|------------------------------|-------------------------|--------------------|-------------|
| 1. Nährboden: Fukuharasche Lösung + 1-proz. Wittepeptonbouillon | 2030 | alkalisch 2° | 0,2 | 3 Std. † |
| | 1980 | dgl. | 0,1 | 9 Tagen † |
| | 2240 | sauer 2° | 0,3 | 1,5 Std. † |
| | 1940 | dgl. | 0,2 | 9 Tagen † |
| | 1940 | sauer 4° | 0,2 | 1,5 Std. † |
| | 1830 | dgl. | 0,1 | 2 Std. † |
| | 2560 | „ | 0,05 | überlebt |
| 2. Nährboden: 2-proz. Shionopectonbouill. | 1700 | sauer 2° | 0,2 | 5,5 Tagen † |
| | 2000 | sauer 4° | 0,2 | 27 „ † |
| | 2030 | sauer 8° | 0,2 | 3 „ † |

VI. Die Giftwirkung beim Kaninchen.

Auch wenn man Nährböden unter ganz gleichen Bedingungen herstellt und sie mit demselben Stamme impft, ist das Gift aus ihnen für Kaninchen nicht gleich wirksam. Man bereite sich einen Nährboden in größerer Menge, verteile gleichgroße Mengen desselben auf gleichgroße Kolben und züchte darin den gleichen Stamm; trotzdem wird man nicht konstante Resultate bekommen. Diese Tatsache ist vielen Autoren bekannt. Aus den Tabellen II, III und IV geht auch klar hervor, daß gleiche Nährböden nicht imstande sind, gleichartige Gifte zu liefern, obgleich derselbe Stamm in ihnen kultiviert wird. Darum kann ich nach meinen wenigen Versuchen noch nicht beurteilen, welcher Nährboden und welche Reaktion zur Typhusgiftbildung am passendsten ist. Unter Berücksichtigung der obigen Resultate gebe ich eine Uebersicht von den Nährböden und Stämmen, welche relativ wirksames Gift produzierten.

- 1) Uedagift I. Stamm Ueda, bei alkalischer Reaktion (2 Grad) auf gemischtem Nährboden aus gleichen Mengen Fukuharascher Lösung und Wittescher Peptonbouillon (Tabelle II).
- 2) Uedagift II. Stamm Ueda, bei saurer Reaktion (2 Grad), Nährboden wie oben (Tabelle III).
- 3) Uedagift III. Stamm Ueda, Reaktion und Nährboden wie oben (Tabelle III).
- 4) Uedagift IV. Stamm Ueda, bei saurer Reaktion (2 Grad), Nährboden aus 2-proz. Shionoscher Peptonbouillon (Tabelle IV).

- 5) Iiogift I. Stamm Iio, Reaktion sauer (4 Grad). Der gemischte Nährboden aus gleichen Mengen Fukuharascher Lösung und Wittescher Peptonbouillon (Tabelle V).

Die letale Dosis der fünf Gifte zeigt die Tabelle V. Unter letaler Dosis ist die kleinste Menge Typhusgift pro Kilo zu verstehen, die das Kaninchen im Laufe von 24 Stunden tötet.

Tabelle V.

| Körpergewicht des Kaninchens | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
|------------------------------|--------------------|--|
| Uedagift I. | | |
| 1800 | 0,3 | 3 Std. †. Lähmung. Dünndarm und Nebennieren hyperämisch |
| 1700 | 0,25 | 2,5 Std. † |
| 1900 | 0,25 | überlebt |
| 2030 | 0,24 | 10 Std. †. Blutungen des Endocardium |
| 2040 | 0,2 | 14 Tagen † |
| 1900 | 0,2 | überlebt |
| Uedagift II. | | |
| 1950 | 0,24 | 15 Tagen † |
| 1920 | 0,2 | überlebt |
| 1800 | 0,16 | " |
| 1900 | 0,12 | " |
| Uedagift III. | | |
| 2000 | 0,18 | 22 Std. †. Diarrhöe. Dünndarm hyperämisch und hämorrhagisch. Blinddarm und Nebennieren hyperämisch |
| 1600 | 0,16 | 2,5 Std. †. Nieren und Nebennieren hyperämisch |
| 2080 | 0,14 | 2,5 Std. †. Dünndarm. Blinddarm und Mesenterialdrüse hyperämisch und hämorrhagisch |
| 1900 | 0,12 | 9 Std. †. Keine Veränderung |
| 2550 | 0,1 | überlebt |
| 2960 | 0,08 | 1 Std. †. Nieren und Nebennieren hyperämisch. Blutungen des Endocardium |
| 2000 | 0,06 | 2,5 Std. †. Nieren und Nebennieren hyperämisch. Blutungen des Endocardium |
| 2000 | 0,05 | 2 Std. † |
| 2000 | 0,02 | 14 Tagen † |
| 2240 | 0,01 | überlebt |
| Uedagift IV. | | |
| 1900 | 0,08 | überlebt |
| 2100 | 0,07 | 10 Std. † |
| 2200 | 0,06 | überlebt |
| 2530 | 0,05 | " |
| Iiogift I. | | |
| 2240 | 0,08 | 15 Std. † |
| 2300 | 0,07 | 15 Std. † |
| 2430 | 0,06 | überlebt |
| 2160 | 0,06 | " |
| 2460 | 0,05 | " |
| 2320 | 0,04 | " |

Aus der Tabelle V ersieht man, daß die letale Dosis pro Kilo bei Kaninchen von Uedagift I 0,3 ccm, Uedagift II 0,3 ccm, Uedagift III 0,05 ccm, Uedagift IV 0,1 ccm und Iiogift I 0,07 ccm beträgt. Uedagift III ist von fünf Giften das stärkste, an zweiter Stelle steht das Iiogift. Auf Grund obiger Versuche kann man schließen, daß die saure Reaktion von 2 Grad, ein Nährboden aus gemischter Lösung gleicher Mengen Fukuharascher Lösung und 1-proz. Wittescher Peptonbouillon und eine Kulturdauer von 3 Wochen für die Giftbildung am besten sind.

Ich habe mit Uedagift III Versuche darüber gemacht, welches Körpergewicht von Kaninchen gegen Typhusgift empfindlich ist.

Ein über 1600 g schweres Kaninchen hat im allgemeinen eine starke Empfindlichkeit für Typhusgift, ein Kaninchen unter 1600 g eine geringe.

Tabelle VI.

| Ueber 1600 g Körpergewicht | | | Unter 1600 g Körpergewicht | | |
|------------------------------|--------------------|------------|------------------------------|--------------------|------------|
| Körpergewicht des Kaninchens | Giftmenge pro Kilo | Erfolg | Körpergewicht des Kaninchens | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
| 1940 | 0,14 | 2 Std. † | 1320 | 0,14 | 9 Tagen † |
| 1900 | 0,12 | 9 Std. † | 1280 | 0,12 | 14 Tagen † |
| 2000 | 0,1 | überlebt | 1180 | 0,1 | überlebt |
| 2550 | 0,08 | 1 Std. † | 1300 | 0,08 | 9 Tagen † |
| 2960 | 0,06 | 2,5 Std. † | 1600 | 0,06 | überlebt |
| 2100 | 0,05 | 2 Std. † | 1200 | 0,05 | † |
| 2000 | 0,02 | 14 Tagen † | 1240 | 0,02 | 11 Tagen † |
| 2240 | 0,01 | überlebt | 1260 | 0,01 | 10 Tagen † |

VII. Klinische Symptome und pathologisch-anatomische Veränderungen beim Kaninchen nach Verimpfung von Typhusgift.

Ich fasse die klinischen Symptome des nach Verabfolgung von Typhusgift erkrankten Kaninchens zusammen: Bei akuter Vergiftung zeigen die Tiere fast alle Diarrhöe, Parese oder Paralyse der Extremitäten, hochgradige Dyspnoe und Krämpfe. Sie verenden in einigen Stunden unter Springkrämpfen. Bei

der chronischen Typhuserkrankung geht das Körpergewicht der Tiere meistens sehr zurück, und sie gehen schließlich unter Mattigkeit zugrunde, während sie sehr selten unter Diarrhöe und Parese sterben. Wenn eine chronische Vergiftung nicht zum Tode führt, brauchen die Tiere zu ihrer Erholung wenigstens einige Monate.

Tabelle VII.

| No. des Kaninchens | Datum | Körpergewicht des Kaninchens |
|--------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 37 | 8. VII. (Giftinjektion) | 1970 |
| | 12. VII. | 1950 |
| | 17. VII. | 1910 |
| | 22. VII. | 1610 |
| | 31. VII. | 1480 |
| | 7. VIII. | 1450 |
| | 18. VIII. | 1480 |
| | 30. VIII. | 1540 |
| | | |
| 96 | 24. VII. (Giftinjektion) | 1900 |
| | 28. VII. | 1720 |
| | 31. VII. | 1720 |
| | 9. VIII. | 1630 |
| | 18. VIII. | 1550 |
| | 24. VIII. | 1520 |
| | 28. VIII. | 1590 |
| 58 | 6. VIII. (Giftinjektion) | 2130 |
| | 8. VIII. | 1860 |
| | 11. VIII. | 1680 |
| | 18. VIII. | 1270 |
| | 21. VIII. | 1170 |
| | 22. VIII. | † |
| | | |

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen bei den einzelnen Kaninchen sind in jedem Versuchsprotokoll angegeben. Sie sollen in folgendem zusammengefaßt werden:

- 1) Hyperämie und Hämorrhagien des Dünn- und Dickdarms. Nur in einem Falle Geschwürsbildung und Nekrose des Dünndarms.
- 2) Hyperämie und Hämorrhagien der Mesenterialdrüsen.
- 3) Hyperämie und Hämorrhagien der Thymusdrüsen.
- 4) Hämorrhagien des Endocardium.
- 5) Hyperämie und Hämorrhagien der Niere, Nebenniere, Lunge, Leber und Milz.

VIII. Die Giftwirkung beim Meerschweinchen.

Ich habe mit Iiogift I, bei welchem die letale Dosis bei intravenöser Impfung beim Kaninchen 0,07 ccm pro Kilo

beträgt, die letale Dosis bei intravenöser und intraperitonealer Impfung beim Meerschweinchen bestimmt. Die letale Dosis beim Meerschweinchen habe ich auf das Kilogramm Meerschweinchenkörpergewicht umgerechnet und sie mit der letalen Dosis beim Kaninchen verglichen.

Tabelle VIII.

| Körpergewicht des Meerschweinchens | Giftmenge | Giftmenge pro Kilo | Applikationsweise | Erfolg |
|------------------------------------|-----------|--------------------|-------------------|------------|
| 250 | 0,175 | 0,7 | ip. | überlebt |
| 260 | 0,182 | 0,7 | " | " |
| 250 | 0,875 | 3,5 | " | " |
| 260 | 0,91 | 3,5 | " | " |
| 250 | 1,75 | 7,0 | " | " |
| 240 | 1,68 | 7,0 | " | " |
| 240 | 0,067 | 0,28 | iv. | " |
| 265 | 0,074 | 0,28 | " | " |
| 240 | 0,084 | 0,35 | " | " |
| 240 | 0,084 | 0,35 | " | " |
| 250 | 0,175 | 0,7 | " | 12 Std. † |
| 240 | 0,168 | 0,7 | " | überlebt |
| 250 | 0,875 | 3,5 | " | 4 Std. † |
| 235 | 0,822 | 3,5 | " | 19 Std. † |
| 260 | 1,82 | 7,0 | " | 4,5 Std. † |
| 250 | 1,75 | 7,0 | " | 6 Std. † |

Wird die hundertfache letale Dosis für Kaninchen (intravenöse Impfung) in die Bauchhöhle von Meerschweinchen injiziert, so zeigt das Meerschweinchen noch keine Symptome. Bei intravenöser Impfung wird das Meerschweinchen von der 10—50fachen letalen Dosis für Kaninchen getötet, d. h. die letale Dosis der intravenösen Impfung beim Meerschweinchen liegt zwischen dem 10—50fachen der letalen Dosis der intravenösen Impfung beim Kaninchen.

Paratyphus B.

I. Auswahl der wirksamen Stämme.

Ich habe in der Auswahl der wirksamen Stämme denselben Nährboden (eine gemischte Lösung aus gleichen Mengen der Fukuharaschen Lösung und Witteschen Peptonbouillon) wie bei der Untersuchung mit Typhusbazillen benutzt. Die Reaktion des Nährbodens war alkalisch (2 Grad). Auf solchem Nährboden habe ich 21 Paratyphus B-Stämme kultiviert und jede Kultur nach 3 Wochen durch ein Asbestfilter filtriert.

Das Filtrat wurde mit Toluol versetzt, einige Tage im Eisschrank belassen und mehrmals gut durchgeschüttelt. Dann benutzte ich es zur Untersuchung.

Tabelle IX.

| Name des Stammes | Körpergew.d. Kaninchens | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
|------------------|-------------------------|--------------------|--|
| Tokio B. | 2000 | 0,5 | 30 Min. †. Kein Befund |
| " | 2030 | 0,1 | 6 Tagen †. Dünndarm, Blinddarm, Nieren u. Nebennieren hyperämisch |
| Langenkopf | 2350 | 0,5 | 40 Min. †. Blutungen im Blinddarm und Dünndarm |
| " | 1970 | 0,1 | 10 Tagen †. Kein Befund |
| I | 2030 | 0,5 | überlebt |
| Taisho 3 | 2620 | 0,5 | 15 Tagen † |
| Fujiwara | 2320 | 0,5 | 50 Min. †. Blutungen der Thymusdrüsen und des Dünndarms |
| " | 2950 | 0,1 | 2,5 Std. †. Blind- u. Dünndarm hyperämisch u. hämorrhagisch. Nieren, Nebennieren u. Milz hyperämisch |
| " | 2270 | 0,025 | überlebt |
| Ueda | 2520 | 0,5 | 6 Tagen †. Kein Befund |
| Hosagai | 2320 | 0,5 | 20 Min. †. Dünndarm hyperämisch |
| " | 2060 | 0,1 | 13 Tagen †. Kein Befund |
| Schottmüller | 2650 | 0,5 | 1,5 Std. †. Blutungen der Thymusdrüsen |
| " | 2200 | 0,1 | überlebt |
| P.B. " | 2650 | 0,5 | 1,5 Std. †. Dünndarm hyperämisch |
| " | 2480 | 0,1 | 2 Std. †. Blind- und Dünndarm hyperämisch |
| " | 2270 | 0,025 | überlebt |
| Ono | 1930 | 0,5 | " |
| Moribe | 2320 | 0,5 | Diarrhöe. Dünndarm hyperämisch und hämorrhagisch. Nebennieren hyperämisch |
| " | 1950 | 0,1 | Blinddarm, Lungen hyperämisch und hämorrhagisch. Nebennieren hyperämisch |
| Koike | 2220 | 0,1 | 6 Tagen †. Nieren, Nebennieren und Lungen hyperämisch |
| Kojima | 2130 | 0,1 | 2 Std. †. Blutungen der Thymusdrüsen und des Dünndarms |
| Ejima | 2270 | 0,1 | 1,5 Std. †. Blutungen der Thymusdrüsen, des Dün- u. Blinddarms |
| " | 1900 | 0,05 | 1 Std. †. Blutungen der Thymusdrüsen, des Dün- u. Blinddarms |
| " | 1900 | 0,01 | überlebt |
| B. | 2200 | 0,1 | 21 Tagen †. Kein Befund |
| Tumori I | 1900 | 0,1 | 1,5 Std. †. Blutungen der Thymusdrüsen und Lungen. Dünndarm und Nieren hyperämisch |
| " | 1970 | 0,05 | 1,5 Std. †. Blutungen der Thymusdrüsen und des Dünndarms |
| " | 1900 | 0,01 | überlebt |

Tabelle IX (Fortsetzung).

| Name des Stammes | Körpergew.d. Kaninchens | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
|------------------|-------------------------|--------------------|---|
| Tumori II | 1860 | 0,1 | 2 Std. †. Diarrhöe. Blutungen der Lungen. Thymusdrüsen hyperäm. |
| Tumori III | 1800 | 0,1 | 12 Tagen †. Blutungen im Dünndarm |
| Momoyama | 1950 | 0,1 | überlebt |
| Yamamoto | 2020 | 0,1 | 2,5 Std. †. Blutungen im Blinddarm und Dünndarm. Lungen u. Nieren hyperämisch |
| Biwa | 1930 | 0,1 | 1,5 Std. †. Blutungen des Dünndarms und der Nieren |
| „ | 1800 | 0,05 | überlebt |

Von 21 Stämmen töteten 9 Stämme in der Menge von 0,1 ccm pro Kilo die Versuchstiere innerhalb einiger Stunden. Die Stämme Esima und Tumori I sind am wirksamsten; sie töteten in einer Menge von 0,05 ccm innerhalb zweier Stunden.

II. Giftbildung auf verschiedenen Nährböden und bei verschiedener Reaktion.

Zur weiteren Prüfung wurden die Stämme Esima und Tumori I, die in dem ersten Versuch von den verschiedenen Paratyphusbazillen das wirksamste Gift produziert hatten, herangezogen. Als Nährböden wurden die gemischte Lösung aus gleichen Mengen Fukuharascher Lösung und Witterscher Peptonbouillon und 2-proz. Shionosche Peptonbouillon hergestellt. Die Reaktion war zum Teil alkalisch (2, 4 Grad), zum Teil sauer bei 2, 4 Grad. (S. Tabelle X auf S. 410.)

Bei diesem Versuch war die Giftproduktion der gleichen Stämme quantitativ nur gering. Nur das Filtrat eines Nährbodens von 2-proz. Shionoscher Peptonbouillon saurer Reaktion von 4°, in dem Stamm Tumori I kultiviert wurde, konnte bei einer Menge von 0,1 ccm innerhalb 3 Stunden töten. Man kann auch aus diesem Versuch erkennen, daß, obwohl man den gleichen Nährboden mit demselben Stamme impft, man keine konstanten Resultate bekommt.

Ich kann nicht genau angeben, welcher Nährboden und welche Reaktionen für Paratyphus B-Giftbildung am besten sind, weil meine Versuche nicht zahlreich genug waren. Ich habe gefunden, daß das Filtrat der gemischten Lösung aus gleichen Mengen Fukuharascher Lösung und

Tabelle X.

| Name des Stammes | Körpergewicht des Kaninchens | Reaktion des Nährbodens | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
|---|------------------------------|-------------------------|--------------------|------------|
| Fukuharasche Lösung + 1-proz. Witte-Peptonbouillon. | | | | |
| Ejima | 1850 | sauer 2° | 0,1 | 8 Tagen † |
| " | 1960 | dgl. | 0,1 | 5 Tagen † |
| " | 2900 | " | 0,05 | überlebt |
| " | 2560 | " | 0,05 | 5 Tagen |
| 2-proz. Shiono-Peptonbouillon. | | | | |
| Ejima | 1900 | alkalisch 4° | 0,1 | 2 Tagen † |
| " | 1800 | dgl. | 0,05 | überlebt |
| " | 2000 | " | 0,1 | 17 Tagen † |
| " | 1650 | " | 0,05 | überlebt |
| " | 1800 | alkalisch 2° | 0,1 | " |
| " | 1680 | dgl. | 0,05 | " |
| " | 1720 | " | 0,1 | " |
| " | 1970 | " | 0,05 | " |
| " | 1720 | sauer 2° | 0,1 | " |
| " | 1700 | dgl. | 0,05 | " |
| " | 2000 | " | 0,1 | " |
| " | 1710 | " | 0,05 | 14 Tagen † |
| " | 1900 | sauer 4° | 0,1 | überlebt |
| " | 1680 | dgl. | 0,05 | 16 Tagen † |
| " | 1610 | " | 0,1 | überlebt |
| " | 1790 | " | 0,05 | " |
| Tumori I | 2300 | alkalisch 2° | 0,1 | " |
| dgl. | 2300 | alkalisch 4° | 0,1 | " |
| " | 2020 | sauer 2° | 0,1 | " |
| " | 2400 | sauer 4° | 0,1 | 3 Std. † |

Wittescher Peptonbouillon in alkalischer Reaktion (2 Grad) in einer Menge von 0,05 ccm ein Kaninchen von 1 kg innerhalb einiger Stunden tötete. Die klinischen Symptome, welche das Paratyphus B-Gift verursachen, sind stärker als beim Typhusgift. Sobald man z. B. eine zu große Menge Paratyphusgift einimpft, quälen sich die Tiere, wälzen sich am Boden oder springen und schreien und sterben nach einigen Minuten, spätestens nach wenigen Stunden. An den makroskopischen pathologisch-anatomischen Veränderungen lassen sich genaue Unterschiede zwischen Paratyphus B-Gift und Typhusgift nicht erkennen.

Paratyphus A.

Um auch bei dem Paratyphus A zuerst die wirksamsten Stämme auszuwählen, habe ich 17 Stämme 3 Wochen lang in einer gemischten Lösung aus gleichen Mengen der Fuku-

haraschen Lösung und Witteschen Peptonbouillon von alkalischer Reaktion von 2 Grad kultiviert. Nach der gleichen Behandlung der Kulturen wie im vorigen Versuche wurden die Filtrate den Kaninchen intravenös eingespritzt.

Tabelle XI.

| Name des Stammes | Körpergewicht des Kaninchens | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
|------------------|------------------------------|--------------------|--|
| Brion | 1900 | 0,3 | 7 Tagen †. Dickdarm und Nieren hyperämisch. Blutungen des Endocardium |
| Makino | 2100 | 0,3 | überlebt |
| Barm | 2150 | 0,3 | |
| I | 1950 | 0,3 | 14 Tagen †. Nebennieren hämorrhagisch und hyperämisch. Nieren hyperämisch |
| II | 2200 | 0,3 | 14 Tagen †. Kein Befund |
| Hiei | 2780 | 0,3 | überlebt |
| Kajiuro | 2800 | 0,3 | 4 Std. †. Blutungen der Thymusdrüsen und Dünndarm |
| " | 2250 | 0,1 | 15 Tagen †. Kein Befund |
| Kasuga | 2200 | 0,3 | überlebt |
| Masumisu | 2360 | 0,3 | 1 Std. †. Dünndarm hämorrhagisch und hyperämisch. Nieren, Nebennieren und Milz hyperämisch |
| " | 2000 | 0,1 | 17 Tagen †. Kein Befund |
| Shinabe | 2100 | 0,3 | überlebt |
| Soya | 2550 | 0,3 | |
| Yamashita | 2300 | 0,3 | 2 Std. †. Diarrhöe. Dünndarm und Thymusdrüsen hämorrhagisch und hyperämisch. Lungen und Milz hyperämisch |
| " | | 0,1 | überlebt |
| Gaikolu | 2200 | | 7 Tagen †. Kein Befund |
| Majeda | 1900 | 0,3 | 1,5 Std. †. Diarrhöe. Dünndarm hämorrhagisch und hyperämisch. Thymusdrüsen, Nieren und Nebennieren hyperämisch |
| " | 1950 | 0,1 | 2 Std. †. Dünndarm hämorrhagisch u. hyperämisch. Nieren hyperämisch |
| " | 1670 | 0,05 | 7 Tagen †. Nieren und Nebennieren hyperämisch |
| Kishigami | 2030 | 0,3 | überlebt |
| Aono | 2160 | 0,3 | |
| Ujinaga | 2160 | 0,3 | 2,5 Std. †. Thymusdrüsen hämorrhagisch und hyperämisch. Blutungen der Nieren. Dünndarm hyperämisch |
| " | 2130 | 0,1 | überlebt |

5 Stämme von 17 Stämmen töteten in der Menge von 0,3 ccm pro Kilo die Versuchstiere innerhalb einiger Stunden.

Stamm Maeda tötete in der Menge von 0,1 ccm innerhalb 2 Stunden.

Wie ich in der Einleitung geschrieben habe, hat noch niemand aus dem Paratyphus A ein lösliches Gift hergestellt. Nach meinen Untersuchungen ist dies gelungen. Das Verhältnis zwischen dem Nährboden und der Giftbildung ist jedoch noch nicht aufgeklärt; ich bin noch dabei, es zu studieren. Die klinisch-anatomischen Veränderungen sind die gleichen wie bei dem Typhusgift und beim Paratyphus B-Gift.

Dysenterie.

I. Der Einfluß der Reaktion des Nährmediums auf die Kahlhautbildung.

Der Nährboden war Normalbouillon; die Reaktion entsprach einem Alkaligehalt von 1, 3, 5 und 7 Grad. Ich züchtete in verschiedenen Nährböden 15 Dysenteriebazillenstämmen, und habe den Einfluß der alkalischen Reaktion auf die Kahlhautbildung geprüft.

Tabelle XII.

| Name des Stammes | Alkali 1° | Alkali 3° | Alkali 5° | Alkali 7° |
|---------------------|-----------------|-----------|-----------|-----------|
| | Kahlhautbildung | | | |
| Dysenterie I | — | — | — | — |
| „ II | — | — | + | — |
| „ III | — | — | + | + |
| „ IV | — | — | — | — |
| „ V | — | — | + | — |
| Flexner I | — | + | + | + |
| Y | — | — | + | + |
| Strong | — | — | — | — |
| Flexner II | — | — | — | — |
| Hirata | — | — | + | — |
| Majekawa | — | — | — | — |
| Tashiro | — | — | — | — |
| Tamagawa | — | — | + | — |
| Shiga | — | — | — | — |
| Nakamura | + | + | + | — |

Das Resultat zeigt, daß eine alkalische Reaktion von 5 Grad für die Kahlhautbildung am geeignetsten ist.

II. Das Verhältnis zwischen der Kulturdauer und der Giftbildung.

Um das Verhältnis zwischen der Kulturdauer und der Giftbildung zu prüfen, habe ich 8 giftarme Dysenteriebazillen-Stämme ausgewählt, die eine gute Kahlhaut bildeten. Die 8 Stämme wurden im alkalischen Normalnährboden (5 Grad)

Tabelle XIII.

| Art des Giftes | Körpergewicht des Kan. | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
|--------------------------|------------------------|--------------------|---|
| Dysenterie II | | | |
| 2 Tagegift ¹⁾ | 1500 | 1,5 | lebt |
| 4 " | 1200 | 1,2 | " |
| 6 " | 1390 | 1,4 | " |
| 8 " | 1240 | 1,2 | " |
| Dysenterie III | | | |
| 2 Tagegift | 1500 | 1,5 | " |
| 4 " | 1170 | 1,2 | " |
| 6 " | 1500 | 1,5 | 7 Tagen †. Blinddarm hyperämisch |
| 6 " | 1200 | 0,6 | lebt |
| 8 " | 1170 | 1,2 | " |
| Dysenterie V | | | |
| 2 Tagegift | 1170 | 1,0 | " |
| 4 " | 1140 | 1,1 | " |
| 6 " | 980 | 1,0 | " |
| 8 " | 1010 | 1,0 | 10 Tagen †. Kein Befund |
| 8 " | 1050 | 0,5 | lebt |
| Y | | | |
| 2 Tagegift | 965 | 1,0 | " |
| 4 " | 1140 | 1,1 | " |
| 6 " | 980 | 1,0 | " |
| 8 " | 1010 | 1,0 | " |
| Hirata | | | |
| 2 Tagegift | 990 | 1,0 | " |
| 4 " | 900 | 0,9 | 6 Tagen †. Kein Befund |
| 4 " | 1200 | 0,6 | lebt |
| 6 " | 1020 | 1,0 | " erholt |
| 8 " | 930 | 1,0 | 3 Tagen †. Blutung und Oedem des Blinddarms |
| 8 " | 980 | 0,5 | 5 Tagen †. Lähmung. Kein Befund |
| 8 " | 1100 | 0,2 | lebt |
| Nakamura | | | |
| 2 Tagegift | 1000 | 1,0 | " |
| 4 " | 990 | 1,0 | " |
| 6 " | 980 | 1,0 | " |
| 8 " | 1020 | 1,0 | 10 Tagen †. Kein Befund |
| Flexner | | | |
| 2 Tagegift | 1000 | 1,0 | lebt |
| 4 " | 1100 | 1,1 | " |
| 6 " | 1200 | 1,2 | 5 Tagen †. Kein Befund |
| 6 " | 1250 | 0,6 | 10 " †. " " |
| 6 " | 1700 | 0,25 | lebt |
| 8 " | 1100 | 1,1 | 1 Tage †. Blinddarm hyperämisch |
| 8 " | 1300 | 0,6 | 7 Tagen †. Lähmung |
| 8 " | 1250 | 0,3 | lebt |
| Tamagawa | | | |
| 2 Tagegift | 980 | 1,0 | " |
| 4 " | 995 | 1,0 | " |
| 6 " | 980 | 1,0 | " |
| 8 " | 990 | 1,0 | " |

1) 2 Tagegift bedeutet: Filtrat aus 2 Tage alter Kultur.

2, 4, 6 und 8 Tage kultiviert. Jede Kultur wurde filtriert, mit 0,5-proz. Karbolsäure versetzt, das Filtrat in den Eis-schrank gestellt. Die Prüfung der Filtrate geschah nach einigen Tagen intravenös an Kaninchen. (S. Tabelle XIII auf S. 413.)

Aus obigem Versuch kann man erkennen, daß die Toxizität des Filtrates im allgemeinen mit der Dauer der Züchtung steigt, obwohl die Stämme den giftarmen Typen zuzurechnen sind. Doch habe ich ein starkes Gift auch nicht nach längerer Fortzüchtung dieser Stämme bekommen. Die Toxizität des Filtrates kann nur in der großen Menge von 0,5 ccm ein Kaninchen von 1 Kilogramm innerhalb einiger Tage töten. Es scheint, daß kein gesetzmäßiges Verhältnis zwischen der Stärke des Giftes und der Kahm-hautbildung besteht.

III. Das Verhältnis zwischen der Kulturdauer, der Reaktion und der Giftbildung.

Ich habe in diesem Versuch den giftigen Typus Fujimoto in 2-proz. Wittescher Peptonbouillon und Fukuharascher Lösung kultiviert. Die Kulturdauer betrug 1, 2 und 3 Wochen, die Reaktion war alkalisch (3 und 5 Grad).

Tabelle XIV.

| Art des Giftes | Körper-gewicht des Ka-ninchens | Gift-menge pro Kilo | Erfolg |
|---|--------------------------------|---------------------|---|
| Fujimoto Nährboden: Alkali 3° 2-proz. Witte-Peptonbouillon. | | | |
| 1 Wochengift ¹⁾ | 1120 | 0,05 | lebt |
| 2 " | 1230 | 0,05 | 9 Tagen †. Lähmung, kein Befund |
| 2 " | 1040 | 0,025 | lebt |
| 3 " | 1250 | 0,025 | 4 Tagen †. Blinddarm hyperämisch und ödematös |
| 3 " | 1000 | 0,005 | 10 Tagen †. Lähmung, kein Befund |
| 3 " | 1400 | 0,0025 | lebt |
| Nährboden: Alkali 3° Fukuharasche Lösung. | | | |
| 1 Wochengift | 1200 | 0,05 | lebt |
| 2 " | 1320 | 0,05 | 5 Tagen †. Lähmung, Blinddarm hyperämisch |
| 2 " | 1420 | 0,025 | 13 Tagen †. Lähmung, kein Befund |
| 3 " | 1250 | 0,025 | 6 Tagen †. Lähmung, kein Befund |
| 3 " | 1000 | 0,005 | lebt |

1) 1 Wochengift bedeutet: Filtrat aus 1 Woche alter Kultur.

| Art des Giftes | Körpergewicht des Kaninchens | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
|--|------------------------------|--------------------|--|
| Nährboden: Alkali 5° 2-proz. Witte-Peptonbouillon. | | | |
| 1 Wochengift | 1000 | 0,05 | lebt |
| 2 " | 900 | 0,05 | 8 Tagen †. Lähmung, kein Befund |
| 2 " | 1200 | 0,01 | lebt |
| 3 " | 1110 | 0,02 | 2 Tagen †. Lähmung, kein Befund |
| 3 " | 1050 | 0,005 | 11 Tagen †. Hochgradige Blutung und Oedem des Blinddarms |
| 3 " | 1040 | 0,0025 | Lähmung, Blutungen des Blinddarms |
| 3 " | 1000 | 0,001 | lebt |
| Fujimata Nährboden: Alkali 5° Fukuharasche Lösung. | | | |
| 1 Wochengift | 1020 | 0,05 | 9 Tagen †. Kein Befund |
| 1 " | 1000 | 0,025 | lebt |
| 2 " | 1200 | 0,025 | 5 Tagen †. Lähmung, kein Befund |
| 2 " | 1300 | 0,01 | lebt |
| 3 " | 1300 | 0,025 | 4 Tagen †. Lähmung, Blinddarm hyperämisch |
| 3 " | 1100 | 0,005 | lebt |
| 3 " | 1200 | 0,0025 | „ |

Die Kulturdauer von 3 Wochen ist zweckmäßiger als die von 1 und 2 Wochen. Eine Alkalleszenz von 5 Grad ist besser als von 3 Grad, als Nährboden erwies sich 2-proz. Wittesche Peptonbouillon geeignet.

IV. Vergleich der verschiedenen Nährböden, die gebrauchten Nährböden.

- 1) 2-proz. Witte-Peptonbouillon
- 2) 1-proz. Witte-Pepton und Fukuharasche Lösung
- 3) 2-proz. Witte-Pepton Essigfleischbouillon
- 4) 2-proz. Shiono-Peptonbouillon.

Reaktion alkalisch (5 Grad), Kulturdauer 3 Wochen, Stamm Fujimoto. (S. Tabelle XV auf S. 416.)

Das Resultat war: 2-proz. Witte-Peptonbouillon und 1-proz. Wittesche Pepton- und Fukuharasche Lösung waren am besten. Die obigen Versuche zeigen: daß man daß Gift in einer Stärke entsprechend der Dosis letalis minima von 0,005 bis 0,0025 für Kaninchen pro Kilo konstant herstellen kann, wenn man den Stamm auswählt (z. B. Stamm Fujimoto) und während 3 Wochen in passendem Nährboden bei alkalischer Reaktion (5 Grad) kultiviert. Als

Tabelle XV.

| Körpergewicht des Kaninchens | Giftmenge pro Kilo | Erfolg |
|--|-----------------------|---|
| Nährboden: 2-proz. Witte-Peptonbouillon. | | |
| 1110 | 0,02 | 2 Tagen †. Lähmung. Kein Befund |
| 1050 | 0,005 | 11 Tagen †. Blutungen und Oedem des Blind- darms |
| 1390 | 0,005 | 4 Tagen †. Blutungen und Oedem des Blind- darms |
| 1040 | 0,0025 | 9 Tagen †. Blutungen des Blinddarms |
| 1115 | 0,0025 | 10 Tagen †. Lähmung. Kein Befund |
| 1000 | 0,001 | lebt |
| Nährboden: 2-proz. Witte-Peptonbouillon. | | |
| 1470 | 0,2 | 1,5 Tagen †. Lähmung. Kein Befund |
| 2150 | 0,15 | 2 Tagen †. Kein Befund |
| 1700 | 0,1 | 4 Tagen †. Lähmung. Blutung und Oedem des Blinddarms |
| 1910 | 0,08 | 8 Tagen †. Lähmung. Blutungen des Blind- darms |
| 2000 | 0,06 | 4 Tagen †. Lähmung. Kein Befund |
| 1100 | 0,05 | 15 Tagen †. Kein Befund |
| 1040 | 0,04 | 4 Tagen †. Lähmung. Kein Befund |
| 1260 | 0,03 | 3,5 Tagen †. Kein Befund |
| 1250 | 0,02 | 8,5 Tagen †. Lähmung. Kein Befund |
| 1080 | 0,02 | lebt |
| 1000 | 0,01 | 5,5 Tagen †. Lähmung. Kein Befund |
| Nährboden: 2-proz. Witte-Pepton-Essigfleischbouillon. | | |
| 1200 | 0,01 | lebt |
| 1100 | 0,007 | „ |
| 1050 | 0,004 | „ |
| Nährboden: 1-proz. Witte-Peptonbouillon + Fukuharasche Lösung. | | |
| 880 | 0,01 | 20 Std. †. Lähmung |
| 1230 | 0,005 | 9 Tagen †. Lähmung. Blutung des Blind- darms |
| 1150 | 0,005 | 4 Tagen †. Lähmung |
| 1300 | 0,0025 | lebt |
| Nährboden: 2-proz. Shiono-Peptonbouillon. | | |
| 2120 | 0,01 | 3,5 Tagen †. Lähmung |
| 1580 | 0,008 | 2,5 Tagen †. Lähmung |
| 1600 | 0,006 | lebt |
| 1400 | 0,005 | „ |

Dosis letalis bezeichne ich die kleinste Menge des Giftes pro Kilo Körpergewicht, welche ein Kaninchen innerhalb 5 Tagen tötet, oder innerhalb 5 Tagen eine Paralyse verursacht.

Was den klinischen und anatomischen Befund des Dysenterie-Giftes bei Kaninchen betrifft, wie er von den bisherigen Forschern beschrieben wurde, so tritt innerhalb von 10 Stunden oder einige Tage nach der Giftinjektion eine Lähmung zuerst der hinteren und dann der vorderen Extremitäten ein. Am

nächsten Tage oder innerhalb einiger Tage nach der Lähmung stirbt das Tier. Die hauptsächlichste anatomische Veränderung ist Oedem, Blutung, Geschwürsbildung und selten Nekrose des Blinddarmes. Bei chronischer Vergiftung stirbt das Tier manchmal unter starker Abmagerung nach einigen Wochen, und man sieht keine anatomischen Veränderungen.

Zusammenfassung.

1) Ueber das lösliche Typhus- und Paratyphusgift haben Chantemesse, Moreschi, Kraus und Steinitzer, Brion und Kayser, Franchetti, Yananouchi u. a. schon berichtet. Die Gifte, welche die Autoren hergestellt haben, waren bei Versuchstieren schwach wirksam. Das stärkste Gift von Typhusbouillon kann ein Kaninchen von 800 g in 0,5 ccm Menge, von Paratyphus ein Kaninchen von 1 kg ebenfalls in 0,5 ccm Menge kaum innerhalb 24 Stunden töten. Aber nach meinem Verfahren kann man ein ziemlich starkes Gift herstellen, wenn man den besten Stamm auswählt und ihn auf dem passendsten Nährboden kultiviert.

2) Die von mir hergestellten Gifte, Typhusgift in Menge von 0,05 ccm, Paratyphus B-Gift von 0,05 ccm, Paratyphus A-Gift von 0,1 ccm, vermögen Kaninchen von 1 kg innerhalb einiger Stunden zu töten, Dysenteriegift in Menge von 0,005 bis 0,0025 ccm innerhalb einiger Tage.

3) Der für die Giftbildung am besten geeignete Nährboden war für Typhus- und Paratyphus B- und A-Gift 1-proz. Wittesche Peptonbouillon + Fukuharasche Lösung, für Dysenteriegift 2-proz. Wittesche Peptonbouillon oder 1-proz. Wittesche Peptonbouillon + Fukuharasche Lösung. Die beste Reaktion des Nährbodens war für Typhusbazillen die saure von 2 Grad, für Dysenteriebazillen die alkalische von 5 Grad.

4) Ein über 1600 gr schweres Kaninchen hat größere Empfindlichkeit für Typhusgift als ein Kaninchen unter 1600 g.

5) Die Toxität des Typhusgiftes ist für Meerschweinchen sehr viel schwächer als für Kaninchen. Die Dosis letalis minima pro Kilogramm verhält sich beim Kaninchen gegenüber dem Meerschweinchen wie 1:10—1:50. Wird die hundertfache letale Dosis für Kaninchen (bei intravenöser Impfung)

in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens injiziert, so zeigt das Meerschweinchen keine Symptome.

6) Typhus-, Paratyphus A- und B-Gift verursacht sehr akute Vergiftung beim Kaninchen. Sobald man eine zu große Menge dieser Gifte intravenös einimpft, wälzen sich die Tiere am Boden oder springen und schreien und sterben nach einigen Minuten.

7) Bei chronischer Vergiftung durch das Typhus- und Paratyphusgift sterben Kaninchen unter starker Abmagerung nach einigen Wochen. Wenn sie nicht sterben, so nimmt ihr Körpergewicht über einen oder zwei Monate dauernd ab.

8) Die anatomischen Veränderungen bei Kaninchen nach Typhus- oder Paratyphusgift-Injektion sind fast gleich. Man kann für jede Art spezifische Veränderungen nicht erkennen. Die Veränderungen waren Blutungen und Hyperämie des Dün- und Dickdarmes, der Mesenterialdrüsen, des Endocardiums, der Niere, der Thymusdrüsen, der Nebennieren, der Lunge, der Leber und der Milz. Ich habe bei Verwendung von Typhusgift nur einen Fall von Geschwürsbildung und Nekrose im Dünndarm gesehen.

9) Ich konnte ein für Versuchstiere wirksames Gift im Filtrat der Bouillonkultur (Typhus- und Paratyphusbazillen) mit Sicherheit herstellen. Die klinischen und anatomischen Veränderungen bei Versuchstieren sind fast die gleichen wie bei Waschwassergift oder Extraktgift der Typhus- und Paratyphusbazillen. Hierüber haben Fukuhara und Ando in der I. Mitteilung über das Bakteriengift berichtet. Nach meinen Versuchen möchte ich nicht entscheiden, ob die Gifte Toxine im engeren Sinne, sogenannte Endotoxogene Fukuharas, oder durch Spaltung des Nährmediums bedingte ptomainartige Gifte sind. Nach weiteren eingehenden Forschungen, besonders nach Immunisierungsversuchen, werde ich über den Gegenstand weiter berichten.

Literatur.

- 1) Fukuhara und Ando, Ueber das Bakteriengift (I. Mitteilung). Japan. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 8; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 18.
- 2) Fukuhara und Ando, Ueber das Bakteriengift (II. Mitteilung). Chugai Ijishinpo, No. 805. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 19.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institut der med. Akademie
Osaka, Japan (Direktor: Prof. Y. Fukuhara.)]

**Ueber das Bakteriengift, insbesondere die Schwankungen
der direkten und indirekten letalen Dosis der Typhus-
bazillen beim Meerschweinchen.**

(IV. Mitteilung.)

Von Dr. **Masaaki Yoshioka.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. Juli 1922.)

I. Einleitung.

Es ist bekannt, daß die Bakterienvirulenz bei oft wiederholter künstlicher Fortzucht nach und nach abnimmt. Den Verlauf dieser Virulenzabnahme habe ich selbst in zahlreichen Versuchen und unter Variierung der Versuchsbedingungen geprüft, insbesondere die Schwankungen der indirekten letalen Dosis der Typhusbazillen, deren Ursachen noch nicht bekannt sind. Prof. Fukuhara und ich haben vor kurzer Zeit eine neue Methode gefunden zur Bestimmung des antiinfektiösen Wertes des Typhusimmunserums. Als Testkultur zur Prüfung mit dieser Methode kann man sich natürlich jedes beliebigen Stammes bedienen. Um dabei aber einen großen Verbrauch an Versuchstieren zu vermeiden, muß man sich bemühen, die direkte bzw. indirekte tödliche Dosis der Kultur möglichst konstant zu erhalten. Ich habe nun versucht, festzustellen, unter welchen Bedingungen sich dies erreichen läßt. Schließlich wurden die quantitativen Beziehungen zwischen der direkten und indirekten letalen Dosis untersucht.

II. Versuchstechnik.

1. Bakterienemulsion: Von 18–20stündiger Schrägagarkultur wurde durch Abschwemmen mit physiologischer Kochsalzlösung eine Emulsion hergestellt und durch Filterpapier filtriert, um sie von gröberen Partikeln zu befreien. Die Emulsion wurde in Menge von 0,5 ccm in ein Fukuharasches Bakteriometer eingegossen und 2 Stunden zentrifugiert. Die Zentrifuge war eingerichtet auf über 3000 Drehungen in einer Minute. Die

Zahl der Teilstriche des Bakteriometers zeigte die Bakterienmenge an. 8 Teilstriche des von mir benutzten Bakteriometers entsprachen einer Oese (2,0 mg). Wir stellten dann von der Originalemulsion Verdünnungen her.

2. Unter der direkten letalen Dosis verstehen wir die kleinste Menge Typhusbazillen, die intraperitoneal injiziert ein Meerschweinchen von 250 bis 300 g im Laufe von 24 Stunden tötet.

3. Bei der Bestimmung der indirekten letalen Dosis, d. h. der L_{+} -Dosis, gehen wir von einer Immunitätseinheit unseres Standardserums aus. Die L_{+} -Dosis gibt die kleinste Menge an, die, mit einer Immunitätseinheit gemischt, ein Meerschweinchen von 250 g nach intraperitonealer Einverleibung in 24 Stunden tötet.

III. Die Schwankungen der letalen Dosis und der Limes-Tod-Dosis einer allmonatlich umgezüchteten Kultur, verglichen mit einer jeden zweiten Monat überimpften.

Da die Bakterienvirulenz im Eisschrank sich besser erhält als bei Zimmertemperatur, bewahren wir die Schrägagar-kulturen stets im Eisschrank auf. Noch über 4 Monate im Eisschrank aufbewahrte Typhuskultur ist weiter fortzuchtbar.

Es erhebt sich die Frage: Nach wieviel Monaten ist die Kultur umzuzüchten, wenn die Virulenzabschwächung der Testkultur und die Vermehrung der L_{+} -Dosis möglichst vermieden

Tabelle I.
Stamm Takayama B.

| Zeit der Prüfung | Dosis letalis | Zeit der Prüfung | L_{+} -Dosis |
|---------------------------------------|---------------|---------------------------------------|----------------|
| Allmonatlich | | Allmonatlich | |
| 19. Oktober 1917 bis 14. November | 0,42 Strich | 29. September 1917 bis 19. Oktober | 4,2 Strich |
| 18. Dezember 1917 bis 25. Dezember | 0,61 „ | 14. November 1917 bis 16. November | 4,4 „ |
| 7. Januar 1918 bis 23. Januar | 0,69 „ | 18. Dezember 1917 bis 23. Dezember | 4,7 „ |
| 25. Januar 1918 bis 5. März | 1,10 „ | 23. Januar 1918 bis 26. Januar | 4,9 „ |
| bis 27. März | 1,17 „ | 2. Februar 1918 bis 4. Februar | 7,2 „ |
| | | 5. März 1918 bis 25. März | 8,0 „ |
| | | 27. März 1918 bis 28. März | 8,2 „ |
| Jeden zweiten Monat | | Jeden zweiten Monat | |
| 30. Oktober 1917 bis 16. November | 0,78 „ | 30. Oktober 1917 bis 1. November | 4,4 „ |
| 8. Januar 1918 bis 15. Januar | 0,81 „ | 4. Januar 1918 bis 19. Januar | 5,9 „ |

werden soll. Um diese Frage zu beantworten, habe ich zuerst eine allmonatlich umgezüchtete mit einer alle 2 Monate umgezüchteten Kultur verglichen. Das Resultat wurde in der Tabelle I zusammengestellt (s. S. 420).

Die Abschwächung der letalen Dosis der alle 2 Monate umgezüchteten Kultur ist größer als die der allmonatlich umgezüchteten Kultur. Im Anfang der Prüfung zeigt sich die L_{\dagger} -Dosis der beiden Kulturen gleich. Aber nach längerer Zeit nimmt die letale Dosis der alle 2 Monate umgezüchteten Kultur mehr zu als die der allmonatlich umgezüchteten Kultur. Um beträchtliche Schwankungen der Prüfungsdosis zu vermeiden, ist es deswegen besser, die Testkultur allmonatlich umzuzüchten.

IV. Die Schwankungen der letalen Dosis der Limes-Tod-Dosis der ersten Kultur und der zweiten Kultur.

Die „erste Kultur“ bedeutet eine 20stündige Kultur, welche man durch direkte Uebertragung aus der Testkultur gewonnen hat. Die „zweite Kultur“ ist eine 20stündige Kultur aus der ersten Kultur.

Ich habe die erste und die zweite Kultur der zwei Stämme (Takayama P, Momoyama 2) darauf geprüft, in welchem Grade die Virulenz und die L_{\dagger} -Dosis derselben schwanken (siehe Tabellen II und III auf S. 422 und 423).

Die direkte letale Dosis des Stammes Takayama P: erste Kultur war im Oktober 1917 = 0,58 Strich, ging nach etwa 8 Monaten im Juni 1918 auf 0,8 Strich herauf. Die Dosis letalis der zweiten Kultur war im Oktober 1917 = 0,42 Strich, betrug nach etwa 4 Monaten im März 1918 = 1,18 Strich.

Die indirekte letale Dosis des Stammes Takayama P: erste Kultur war im Oktober 1917 = 3,1 Strich, betrug etwa nach 8 Monaten 5,9 Strich, die der zweiten Kultur im Oktober 1917 = 4,2 Strich, nach 5 Monaten im März 1918 = 8,2 Strich.

Die direkte letale Dosis des Stammes Momoyama 2: erste Kultur betrug im August 1917 = 0,9 Strich, nach 6 Monaten im Januar 1918 = 1,22 Strich und die der

Tabelle II.
Stamm Takayama P.

| Die erste Kultur | | Die zweite Kultur | |
|---------------------------------------|----------------|---------------------------------------|----------------|
| Datum | Bakterienmenge | Datum | Bakterienmenge |
| Dosis letalis | | | |
| 24. Oktober 1917 bis 30. Oktober | 0,58 Strich | 24. Oktober 1917 bis 14. November | 0,42 Strich |
| 12. November 1917 bis 16. November | 0,57 „ | 18. Dezember 1917 bis 25. Dezember | 0,61 „ |
| 4. Dezember 1917 bis 6. Dezember | 0,58 „ | | |
| 9. Januar 1918 bis 15. Januar | 0,68 „ | 7. Februar 1918 bis 23. Februar | 0,69 „ |
| 16. Februar 1918 bis 17. Februar | 0,70 „ | 25. Februar 1918 bis 5. März | 1,10 „ |
| 5. Juni 1918 bis 28. Juni | 0,8 „ | 27. März 1918 bis 28. März | 1,17 „ |
| Die indirekte letale Dosis | | | |
| 24. Oktober 1917 bis 31. Oktober | 3,1 Strich | 29. September 1917 bis 19. Oktober | 4,1 Strich |
| 12. November 1917 bis 16. November | 3,3 „ | 14. November 1917 bis 16. November | 4,4 „ |
| 4. Dezember 1917 bis 5. Dezember | 3,3 „ | 18. Dezember 1917 bis 23. Dezember | 4,7 „ |
| 9. Januar 1918 bis 10. Januar | 3,3 „ | 23. Januar 1918 bis 25. Januar | 4,9 „ |
| 14. Januar 1918 bis 17. Januar | 4,2 „ | 2. Februar 1918 bis 4. Februar | 7,2 „ |
| 16. Februar 1918 bis 17. Februar | 4,4 „ | 5. März 1918 bis 15. März | 8,0 „ |
| 18. Mai 1918 bis 23. Mai | 5,9 „ | 27. März 1918 bis 28. März | 8,2 „ |

zweiten Kultur war im November 1917 = 1,0 Strich, nach etwa 4 Monaten 1,7 Strich.

Die indirekte letale Dosis des Stammes Momoyama 2: erste Kultur war im Oktober 1917 = 1,8 Strich, im August nach 10 Monaten 5,5 Strich, die der zweiten Kultur im September 1917 = 3,9 Strich, nach 6 Monaten im März 1918 = 7,6 Strich.

Natürlich steigt die Größe der direkten letalen Dosis wie die der indirekten letalen Dosis sowohl in der „ersten“ wie in der „zweiten Kultur“ im Laufe der Zeit an. Es ist aber doch wichtig zu wissen, daß die „zweite Kultur“ einen größeren Anstieg aufweist als die „erste Kultur“. Ich empfehle somit, stets die „erste Kultur“ zu verwenden, um eine Virulenzabschwächung der Testkultur und die Größenzunahme der indirekten letalen Dosis möglichst zu vermeiden.

Tabelle III.
Stamm Momoyama 2.

| Die erste Kultur | | Die zweite Kultur | |
|---------------------------------------|----------------|---|----------------|
| Datum | Bakterienmenge | Datum | Bakterienmenge |
| Dosis letalis. | | | |
| 3. August 1917 bis 10. August | 0,90 Strich | 1. November 1917 bis 3. November | 1,0 Strich |
| 14. August 1917 bis 16. August | 0,90 „ | 14. November 1917 bis 17. November | 1,0 „ |
| 21. August 1917 bis 23. August | 0,98 „ | 5. Dezember 1917 bis 12. Dezember | 1,05 „ |
| 30. August 1917 bis 31. August | 1,05 „ | | |
| 29. Oktober 1917 bis 2. November | 1,07 „ | | |
| 12. November 1917 bis 16. November | 1,00 „ | | |
| 4. Dezember 1917 bis 6. Dezember | 1,00 „ | | |
| 9. Januar 1918 bis 10. Januar | 1,00 „ | 8. Januar 1918 bis 15. Januar | 1,07 „ |
| 14. Januar 1918 bis 18. Januar | 1,22 „ | 15. Januar 1918 bis 17. Januar | 1,20 „ |
| | | 8. Februar 1918 bis 15. Februar | 1,25 „ |
| | | 23. Februar 1918 bis 3. März | 1,70 „ |
| Die indirekte letale Dosis. | | | |
| 30. Oktober 1917 bis 3. November | 1,8 Strich | 28. September 1917 bis 30. September | 3,9 Strich |
| 12. November 1917 bis 14. November | 1,8 „ | 6. Oktober 1917 bis 7. Oktober | 3,7 „ |
| 4. Dezember 1917 bis 6. Dezember | 2,0 „ | 11. Oktober 1917 | 3,8 „ |
| | | 30. Oktober 1917 bis 31. Oktober | 3,9 „ |
| | | 14. November 1917 bis 16. November | 4,0 „ |
| | | 5. Dezember 1917 bis 10. Dezember | 3,9 „ |
| 9. Januar 1918 bis 15. Januar | 2,6 „ | 9. Januar 1918 bis 12. Januar | 3,8 „ |
| 16. Februar 1918 bis 18. Februar | 3,0 „ | 16. Januar 1918 bis 20. Januar | 4,6 „ |
| 12. Juli 1918 bis 16. Juli | 4,3 „ | 8. Februar 1918 bis 14. Februar | 5,2 „ |
| 19. Juli 1918 bis 22. Juli | 4,9 „ | 20. Februar 1918 bis 22. Februar | 5,8 „ |
| 24. Juli 1918 bis 28. Juli | 5,4 „ | 25. Februar 1918 bis 3. März | 7,0 „ |
| 1. August 1918 bis 4. August | 4,5 „ | 7. März 1918 bis 15. März | 7,6 „ |
| 7. August 1918 bis 13. August | 5,5 „ | | |

V. Die Schwankungen der Virulenz und der Limes-Tod-Dosis bei einem Stamm, der in jedem Monat einmal einer Tierpassage unterworfen wurde, verglichen mit einem Stamm, der ohne Tierpassage fortgezüchtet wurde.

In den bisherigen Versuchen konnte festgestellt werden, daß die Art der Fortzucht der Kultur einen Einfluß auf die Virulenz und die L_{\dagger} -Dosis ausübt.

Tabelle IV.
Stamm Momoyama 2.

| Stamm mit Tierpassage | | Stamm ohne Tierpassage | |
|---|----------------|---|----------------|
| Datum | Bakterienmenge | Datum | Bakterienmenge |
| Die direkte letale Dosis. | | | |
| 7. März 1918 bis 20. März | 1,05 Strich | | |
| 22. März 1918 bis 28. März | 0,98 „ | | |
| 1. Mai 1918 bis 14. Mai | 0,95 „ | | |
| 15. Mai 1918 bis 18. Mai | 1,12 „ | | |
| 5. Juli 1918 bis 12. Juli | 1,25 „ | | |
| 22. August 1918 bis 24. August | 1,30 „ | | |
| 16. September 1918 bis 21. September | 1,60 „ | 28. September 1918 bis 1. Oktober | 1,30 Strich |
| 24. Oktober 1918 bis 3. November | 1,00 „ | 21. Oktober 1918 bis 24. Oktober | 1,55 „ |
| 21. November 1918 bis 22. November | 0,96 „ | 21. November 1918 bis 22. November | 1,55 „ |
| Die indirekte letale Dosis. | | | |
| 22. August 1918 bis 28. August | 5,1 Strich | 22. August 1918 bis 27. August | 5,3 Strich |
| 18. September 1918 bis 21. September | 5,2 „ | 4. September 1918 bis 6. September | 5,3 „ |
| 8. Oktober 1918 bis 16. Oktober | 6,0 „ | 16. September 1918 bis 21. September | 6,0 „ |
| 18. Oktober 1918 bis 20. Oktober | 6,0 „ | 20. Oktober 1918 bis 25. Oktober | 6,4 „ |
| 24. Oktober 1918 bis 29. Oktober | 5,5 „ | 21. November 1918 bis 24. November | 6,5 „ |
| 21. November 1918 bis 22. November | 4,9 „ | | |
| 28. November 1918 bis 30. November | 5,0 „ | | |
| 4. Dezember 1918 bis 6. Dezember | 5,1 „ | | |
| 7. Dezember 1918 bis 8. Dezember | 5,2 „ | | |

Um den Einfluß von Tierpassagen auf die Schwankungen der Virulenz und der L_{+} -Dosis zu prüfen, habe ich einen Stamm, der allmonatlich einmal das Tier passierte, und einen Stamm ohne Passage verglichen (s. Tabelle IV auf S. 424).

Diese Versuche zeigen, daß die Größenzunahme der letalen und der L_{+} -Dosis vermieden werden kann, wenn ein Stamm allmonatlich einmal einer Tierpassage unterworfen wird. Jedoch verursacht jede Tierpassage eine zu große Schwankung der letalen und der L_{+} -Dosis, d. h. wir können kein Konstantbleiben der letalen und der L_{+} -Dosis durch eine Tierpassage erzielen. Die Tierpassage ist also nicht zweckmäßig.

IV. Direkte und indirekte letale Dosis in bezug auf die Immunitätsreaktionen.

Das Verhältnis zwischen der direkten und indirekten letalen Dosis ist für unsere Wertbestimmung des antiinfektiösen Serums am wichtigsten. Wenn Bindungsvermögen, Virulenz und immunisierende Kraft der Bakterien parallel gehen, wie Pfeiffer und Strong behaupten, muß die bisherige Methode der Wertbestimmung, bei welcher die Virulenz direkt als Maßstab verwendet wird, richtig sein. Aber wie wir bei dem Bericht einer neuen Methode zur Bestimmung des antiinfektiösen Wertes des Typhus-, Paratyphus- und Choleraimmunserums erklärt haben, ist die bisherige Methode, welche die Virulenz als Maßstab verwendet, nach der Art der Stämme inkonstant, d. h. es besteht kein durchgehender Parallelismus zwischen Virulenz und Bindungsvermögen. Daß dem in der Tat so ist, zeigen die folgenden Tabellen.

Tabelle V.

| Dosis letalis | | L_{+} -Dosis | |
|---|----------------|---------------------------------------|----------------|
| Datum | Bakterienmenge | Datum | Bakterienmenge |
| Stamm Takayama. | | | |
| 11. November 1916 bis 25. November | 0,60 Strich | 20. Dezember 1916 bis 21. Dezember | 6,2 Strich |
| 20. Dezember 1916 bis 24. Dezember | 0,60 „ | 25. Dezember 1916 bis 27. Dezember | 5,9 „ |
| 28. Dezember 1916 bis 9. Januar 1917 | 0,61 „ | 8. Januar 1917 | 5,9 „ |
| 23. Januar 1917 bis 10. Februar | 0,94 „ | 17. Januar 1917 bis 20. Januar | 6,3 „ |

Tabelle V (Fortsetzung).

| Dosis letalis | | L ₊ -Dosis | |
|---|----------------|---------------------------------------|----------------|
| Datum | Bakterienmenge | Datum | Bakterienmenge |
| 18. Februar 1917 bis 10. März | 2,50 Strich | 22. Januar 1917 bis 28. Januar | 6,4 Strich |
| 19. März 1917 bis 29. März | 2,60 „ | 30. Januar 1917 | 6,6 „ |
| 23. April 1917 bis 30. April | 2,60 „ | 2. Februar 1917 bis 7. Februar | 7,5 „ |
| 28. Mai 1917 bis 31. Mai | 2,70 „ | 14. Februar 1917 bis 19. Februar | 7,8 „ |
| 8. September 1917 bis 12. September | 2,40 „ | 5. März 1917 bis 6. März | 8,1 „ |
| | | 19. März 1917 bis 24. März | 7,9 „ |
| | | 23. April 1917 bis 2. Mai | 7,9 „ |
| Stamm Takayama P. | | | |
| 3. Juli 1917 bis 10. August | 1,0 Strich | 28. August 1917 bis 30. August | 9,2 Strich |
| 28. August 1917 bis 7. September | 1,02 „ | 2. September 1917 | 9,2 „ |
| 24. September 1917 bis 29. September | 0,88 „ | 3. September 1917 bis 6. September | 9,9 „ |
| Stamm Yoshino. | | | |
| 23. Oktober 1917 bis 25. Oktober | 0,81 Strich | 27. Oktober 1917 bis 11. November | 4,0 Strich |
| 8. November 1917 bis 11. November | 0,84 „ | | |
| Stamm Wakino. | | | |
| 19. Oktober 1917 bis 24. Oktober | 0,94 Strich | 17. Oktober 1917 bis 29. Oktober | 4,3 Strich |
| Stamm I. | | | |
| 7. Oktober 1918 bis 14. Oktober | 24,0 Strich | 11. Oktober 1918 bis 15. Oktober | 32,0 Strich |
| | | 7. November 1918 bis 15. November | 31,0 „ |
| | | 18. November 1918 bis 27. November | 33,0 „ |
| | | 10. Dezember 1918 bis 12. Dezember | 37,0 „ |
| | | 13. Dezember 1918 bis 17. Dezember | 39,0 „ |
| Stamm Momoyama III. | | | |
| 3. August 1917 bis 11. August | 0,73 Strich | 25. August 1917 bis 28. August | 8,6 Strich |
| 14. August 1917 bis 18. August | 0,82 „ | | |
| 20. August 1917 bis 22. August | 0,85 „ | | |
| 25. August 1917 | 0,86 „ | | |

Tabelle V (Fortsetzung).

| Dosis letalis | | L ₊ -Dosis | |
|---|-----------------------|--|-----------------------|
| Datum | Bakterienmenge | Datum | Bakterienmenge |
| Stamm 637. | | | |
| 19. November 1916 bis 29. November 6. Januar 1917 | 27,0 Strich 51,0 „ | 5. Dezember 1916 bis 13. Januar 1917 23. Januar 1917 bis 10. März | 36,0 Strich 41,5 „ |
| 21. März 1918 bis 30. März | 55,0 „ | 17. März 1917 bis 26. März | 54,0 „ |

Das Verhältnis zwischen der direkten und indirekten letalen Dosis ist zu einer bestimmten Zeit:

| | |
|------------------------------|--|
| bei dem Stamm „Takayama“ . . | $\frac{L_{+}-D.}{D. l.} = \frac{6,2}{0,6} = 10,3$ |
| „ „ „ „Momoyama 2“ | $\frac{L_{+}-D.}{D. l.} = \frac{1,8}{1} = 1,8$ |
| „ „ „ „Takayama P“ | $\frac{L_{+}-D.}{D. l.} = \frac{9,2}{1,0} = 9,2$ |
| „ „ „ „Yoshino 2“ . . | $\frac{L_{+}-D.}{D. l.} = \frac{4,0}{0,81} = 4,9$ |
| „ „ „ „Wakino“ . . | $\frac{L_{+}-D.}{D. l.} = \frac{4,3}{0,94} = 4,6$ |
| „ „ „ „I“ | $\frac{L_{+}-D.}{D. l.} = \frac{32,0}{24,0} = 1,3$ |
| „ „ „ „Momoyama 3“ | $\frac{L_{+}-D.}{D. l.} = \frac{8,6}{0,73} = 11,7$ |
| „ „ „ „637“ | $\frac{L_{+}-D.}{D. l.} = \frac{36,1}{27} = 1,4$ |

Es ist also klar, daß das Bindungsvermögen der Bakterien gegen Immunkörper nach der Art der Stämme verschieden ist, und Bindungsvermögen und Virulenz der Bakterien nicht parallel gehen. Aus diesem Grunde müssen wir die alte Methode als ungenau bezeichnen.

Das Verhältnis zwischen der letalen Dosis und der L₊-Dosis liegt zwischen 1:1,3 und 1:10. Dieses Verhältnis ist bei keinem Stamme konstant. Bei einer Vergrößerung beider Dosen verändert sich auch ihr Verhältnis, und zwar nähern sich die Werte der Dosis letalis und L₊-Dosis mit der Vergrößerung der Dosis. Z. B. war das Verhältnis der L₊-Dosis des Stammes „Takayama“ zu der letalen Dosis desselben Stammes zuerst 1:10, nach 10 Monaten 1:3,2. Bei dem Stamm „637“ war das Verhältnis im Dezember 1916 1:1,3, im März 1918 1:1. Aehn-

lich liegen die Bedingungen bei Cholerabazillen und Paratyphusbazillen, wie die folgende Tabelle zeigt.

Tabelle VI.
Cholerastamm „Oishi 16“.

| Datum | Dosis letalis. Bakterienmenge | Limes-Tod-Dosis. Bakterienmenge |
|------------------|----------------------------------|------------------------------------|
| im August 1918 | 0,0006 Strich | 2,4 Strich |
| im Dezember 1918 | 0,002 „ | 7,8 „ |
| im März 1919 | 0,01 „ | 12,0 „ |

Cholerastamm „Oishi 15“.

| | | |
|--------------|-------------|------------|
| im Juli 1918 | 0,11 Strich | 3,8 Strich |
|--------------|-------------|------------|

Cholerastamm „Sakiti“.

| | | |
|-----------------|------------|------------|
| im Oktober 1918 | 3,8 Strich | 1,5 Strich |
|-----------------|------------|------------|

Tabelle VII.
Paratyphusstamm „Murata“.

| Datum | Dosis letalis. Bakterienmenge | Limes-Tod-Dosis. Bakterienmenge |
|------------------|----------------------------------|------------------------------------|
| im November 1919 | 0,8 Strich | 11,7 Strich |

Paratyphusstamm „Biwa“.

| | | |
|-----------------|------------|-------------|
| im Februar 1920 | 0,4 Strich | 14,6 Strich |
|-----------------|------------|-------------|

Paratyphusstamm „Moribe“.

| | | |
|----------------|------------|-------------|
| im August 1920 | 0,4 Strich | 10,7 Strich |
|----------------|------------|-------------|

Paratyphusstamm „Ejima“.

| | | |
|----------------|------------|-------------|
| im August 1920 | 7,0 Strich | 13,0 Strich |
|----------------|------------|-------------|

Wie obiger Versuch zeigt, verhielt sich die L_{\dagger} -Dosis des Stammes „Oishi 16“ zu der letalen Dosis im August wie 1:40000, das Verhältnis wurde im März 1919 = 1:1200. Bei dem Stamm „Oishi 15“ ist es etwa 1:34, bei dem Stamm „Sakiti“ 1:4,3. Bei dem Paratyphusstamm „Murata“ ist es etwa 1:15, bei dem Paratyphusstamm „Biwa“ etwa 1:36, bei dem Paratyphusstamm „Moribe“ etwa 1:3, bei dem Paratyphusstamm „Ejima“ etwa 1:2. Virulenz und Bindungsvermögen der Bakterien gegenüber dem Immunkörper gehen, wie auch die obenstehenden Tabellen zeigen, durchaus nicht parallel. Die Abnahme der Virulenz mit der Zeit erfolgt im Verhältnis schneller als die Zunahme der L_{\dagger} -Dosis, so daß schließlich ein Zeitpunkt kommen muß, an dem beide Werte gleich werden.

Das Problem der Beziehung zwischen Virulenz und Bindungsvermögen der Bakterien gegen Immunkörper kann wohl erst geklärt werden, nachdem neben anderem über die

Beziehungen zwischen abgetöteten Bakterien und Immunkörper Klarheit gewonnen ist.

Zusammenfassung.

1) Als Testkultur zur Prüfung mit unserer neuen Methode zur Bestimmung des antiinfektiösen Wertes des Typhusimmunserums (auch Cholera- und Paratyphusimmunserums) kann man jeden beliebigen Stamm nehmen. Um aber Versuchstiere zu sparen, muß man sich bemühen, die direkte bzw. indirekte tödliche Dosis der Kultur möglichst konstant zu erhalten. Die Resultate der in dieser Richtung angestellten Versuche waren folgende:

a) Die im Eisschrank über 4 Monate aufbewahrte Typhuskultur ist zwar noch überimpfbar, doch ist es ratsam, um beträchtliche Schwankungen zu vermeiden, als Testkultur eine jeden Monat umgeimpfte Kultur zu verwenden.

b) Die „erste Kultur“ zeigte eine bessere Konstanz der Prüfungsdosis als die „zweite“. Ich empfehle daher, stets die „erste“ Kultur zu benutzen, um die Virulenzabschwächung der Testkultur und die Vergrößerung der L_{+} -Dosis möglichst zu vermeiden. Die „erste Kultur“ bedeutet dabei eine 20stündige Kultur, welche man durch direkte Uebertragung aus der Testkultur gewonnen hat, die „zweite Kultur“ eine 20stündige Kultur aus der „ersten Kultur“.

c) Die Tierpassage ist nicht zweckmäßig. Man kann zwar durch die Tierpassage den Stamm vor der Abschwächung der Virulenz und der Steigerung der L_{+} -Dosis schützen, die Passagen verursachen jedoch häufig zu große Schwankungen der letalen Dosis und der L_{+} -Dosis.

2) Daß das Bindungsvermögen der Bakterien gegenüber Immunserum nach der Art der Stämme verschieden ist, und daß das Bindungsvermögen und die Virulenz der Bakterien nicht parallel gehen, zeigt die folgende Tabelle, welche aus den mit acht Typhusstämmen, vier Paratyphusstämmen und drei Cholerastämmen ausgeführten Untersuchungen zusammengestellt wurde.

3) Pfeiffer und Strong sind auf Grund ihrer Arbeiten zu der Auffassung gekommen, daß bei Cholera Bindungsvermögen, Virulenz und immunisierende Kraft der Bakterien

| Stämmenname | Dosis letalis | Limes-Tod-Dosis |
|---------------------------|---------------|-----------------|
| | Typhus. | |
| I und 637 | 1 | 1,3 |
| Momoyama II | 1 | 1,7 |
| Wakino | 1 | 4,5 |
| Yoshino | 1 | 5,0 |
| Takayma P | 1 | 9,0 |
| Momoyama III und Takayama | 1 | 10,0 |
| | Cholera. | |
| Oishi 16 | 1 | 40 000 |
| Oishi 15 | 1 | 34,0 |
| Sakiti | 1 | 4,3 |
| | Paratyphus. | |
| Murata | 1 | 15,0 |
| Biwa | 1 | 36,0 |
| Moribe | 1 | 3,0 |
| Ejima | 1 | 2,0 |

parallel gehen. Ich habe dagegen in obiger Tabelle die Tatsache festgestellt, daß kein Parallelismus zwischen Virulenz und Bindungsvermögen besteht, d. h. je nach der Art des Stammes sich sowohl die Größe der L_{\dagger} -Dosis als auch die des Virulenztiters verschieden verhalten. Die Wertbestimmungsmethode, bei welcher die letale Dosis direkt als Maßstab verwendet wird, ist deswegen sehr ungenau.

Literatur.

- 1) Fukuhara, Eine neue Wertbestimmungsmethode des antiinfektiösen Serums. Chugai Ijishinpo, No. 948.
- 2) Fukuhara und Yoshioka, Eine neue Methode zur Wertbestimmung des Typhusserums. Japan. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 15, 1919, No. 1, Festschr. f. Prof. Sata zu seinem 25-jährigen Jubiläum 1920, und A new method of testing antityphoid serum. The Journal of Immunol., Vol. 4, 1919, No. 5.
- 3) Yoshioka und Ueno, Eine neue Methode zur Bestimmung des Cholera-serums. Osaka Igakukai Zasshi, Bd. 18, No. 6.
- 4) Yoshioka, Eine neue Methode zur Bestimmung des Paratyphusserums. Tokyo Igakukai Zasshi, 1921.
- 5) Fukuhara, Die weitere Anwendung unserer neuen Methode zur Wertbestimmung der antiinfektiösen Cholera- sowie Paratyphussera. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 86, 1921.
- 6) Fukuhara und Ando, Ueber das Bakteriengift (I. Mitteilung). Japan. Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh., Bd. 8; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 18.
- 7) Fukuhara und Ando, Ueber das Bakteriengift (II. Mitteilung). Chugai Ijishinpo, No. 805. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 19.
- 8) Yoshioka, Ueber das Bakteriengift (III. Mitteilung). Ijishinbun, No. 1021.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmako-therapeutischen Institut der Reichs-Universität in Leiden.]

Beiträge zur Morphologie und Entwicklung des *Bacillus typhi exanthematici* (Weil-Felix).

Von Dr. Z. Bien,
Konservator des Instituts.

Mit 5 Abbildungen im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. August 1922.)

I. Fädenbildung.

Beim Arbeiten mit den X-Stämmen fand ich außer den morphologischen Eigenschaften, die bereits von Weil-Felix¹⁾ beschrieben wurden, noch regelmäßig andere. Gleich im voraus sei bemerkt, daß besonderer Wert darauf gelegt wurde, 3—6stündige Kulturen im Vergleich zu 24stündigen zu untersuchen.

1) Die von Weil und Felix ausschließlich aus Fleckfieberkranken gezüchteten und von ihnen als X-Stämme bezeichneten Bakterien wachsen in zwei Formen. Die eine wächst proteus-hauchartig, weswegen sie von ihren Entdeckern H- (d. h. „h“auchartig wachsende) Form genannt wurde. Die andere Form wächst dagegen ganz zirkumskript, wie z. B. Typhuskolonien, und wurde O- (d. h. „o“hne Hauch wachsende) Form bezeichnet. Sowohl die H- als auch die O-Form wird durch Fleckfieberkrankenserum bzw. durch das Serum von Fleckfieber überstandenen Menschen spezifisch agglutiniert, und zwar die H-Form grobflockig, die O-Form dagegen körnig.

X-, X2-, OX1-, OX2-Stämme geben mit Fleckfieberkrankenserum einen niedrigen, X3 bzw. OX3 bis hinauf zu X19 bzw. OX19 einen höheren Titer.

Die Entdeckung Weils, daß in einer Kultur zwei völlig verschiedene Bakterien mit Regelmäßigkeit vorkommen, kann viele Tatsachen (atypische Form, Involutionerscheinung, pathogene und nichtpathogene Form) erklären. (Weil und Felix, Münch. klin. Wochenschr., 1916, No. 2.)

Daß Proteuskulturen oft fadenförmig ebenso wie der Bac. Zopfii wachsen, ist bekannt, nicht aber, daß das regelmäßig der Fall ist.

Zunächst wurde eine 18stündige gewöhnliche X-Schrägagarkultur untersucht; Fig. 1 zeigt genau das Bild, wie es bereits Weil und Felix fanden. Man sieht die einzelnen Bazillen, die sich nur in der Größe etwas unterscheiden, sonst aber vollkommen gleich sind. Dasselbe Bild kann auch durch Züchtung der X-Stämme auf anderen Nährböden erhalten werden. Wesentliche morphologische Veränderungen kommen

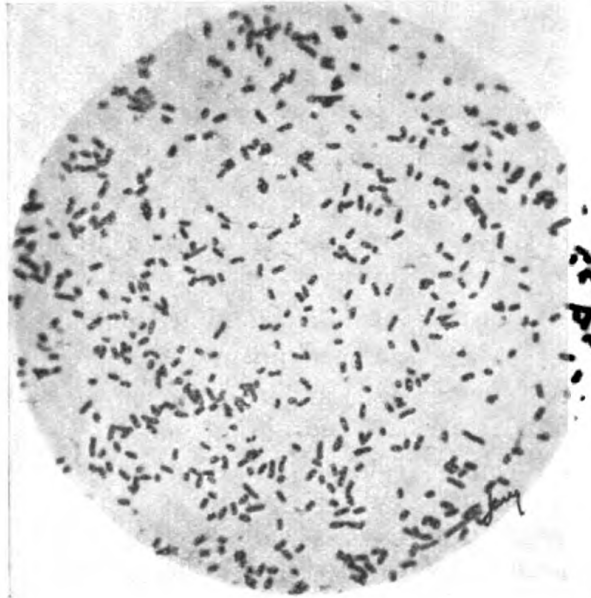


Fig. 1.

bei solchen relativ älteren Kulturen nicht vor.

Im Vergleich zu den von Rocha-Lima in Läusen gefundenen bakterienähnlichen Gebilden, die er *Rickettsia Proxazeki* nannte, sind die Weil-Felixschen Bazillen etwas größer. Indem ich, hiervon ausgehend, die Größe der Bazillen zur Leitlinie machte,

beobachtete ich, daß die Weil-Felixschen Bazillen im mikroskopischen Präparat in zwei verschieden großen Formen vorkommen, und zwar besteht die eine aus relativ kleinen Stäbchen, bei deren Betrachtung man schon genau Obacht geben muß, um sie als Stäbchen zu erkennen. Die andere Gruppe zeigt dagegen viele Fäden und deutliche, große Stäbchen. Sie wurde besonders auf den Platten gefunden, auf denen das Schwärmen schnell vor sich ging, und schon nach 12 Stunden fast die ganze Oberfläche mit einem Hauch überzogen war.

Diese Beobachtung brachte mich auf den Gedanken, daß das Alter der Kulturen eine entscheidende Rolle spiele, und von ihm regelmäßig die Form der Kulturen abhängen. Die

Richtigkeit dieser Ansicht wird durch Fig. 2 bestätigt. Sie zeigt im Gegensatz zu Fig. 1 die jüngeren (3—6stündigen) Kulturen. Die beiden Abbildungen sind trotz ihres völlig ungleichen Aussehens nur infolge Altersunterschied von wenigen Stunden so verschieden. Während man bei der ersten nur kleine Bazillen sieht, findet sich in der zweiten neben ungleich größeren Stäbchen eine ausgesprochene Neigung zur Bildung von sehr langen Fäden. Außer dem X 19 zeigen auch junge Kulturen von X 1- und X 2-Bazillen regelmäßig Fädenbildung.

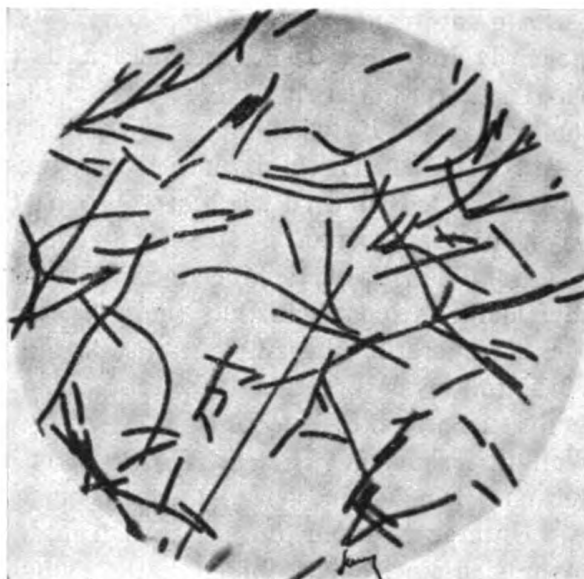


Fig. 2.

Bei den morphologischen Untersuchungen dieser jungen Kulturen muß man folgendes in Betracht ziehen. Beimpft man mit einem X-Stamm die Mitte einer

Agarplatte, so sind die vom Zentrum entfernt liegenden Bakterien jünger als die näher liegenden bzw. in ihm vorhandenen. Der äußere Rand des Hauches ist oft so fein, daß man ihn kaum erkennen kann. Bezeichnen wir die äußerste Grenze des Hauches durch eine Marke und lassen wir die Kultur ca. 6 Stunden weiter bebrüten, so sehen wir, daß der Hauch sich über die Marke $\frac{1}{2}$ —1 cm hinaus verbreitert hat. Die in dieser Zone des Hauches befindlichen Bakterien sind dann also ca. 6 Stunden jünger als die in unmittelbarer Nähe der Marke gelegenen. Untersuchen wir dem äußersten Rand des Hauches entnommene Bazillen im gefärbten Präparat, so finden wir ausgesprochen lange Fäden. $\frac{1}{2}$ cm weiter zentral entnommene Bazillen zeigen auch noch immer Fädenbildung, jedoch ist an ihnen schon eine

Gliederung erkennbar. Sukzessive nach dem Zentrum fortschreitend verschwindet die Fädenform und macht der Stäbchenform Platz. Im Zentrum schließlich sind nur kleine Stäbchen und ganz vereinzelt Fäden (vgl. Fig. 1). Lassen wir die Platte weiterhin im Brutschrank, so breitet sich der Hauch über die ganze Platte aus, so daß nirgends ein freier Rand bleibt. Von den verschiedensten Stellen abgeimpfte Präparate zeigen nur kleine Stäbchen und selten vereinzelte Fäden. Für das Alter derartig entnommener Bakterien haben wir nun kein Kriterium mehr, da die über 6—8 Stunden alten Bakterien morphologisch gleich sind; sie haben bereits das Höhestadium ihrer Entwicklung erreicht im Gegensatz zu den 6—8 Stunden alten Bakterien, die also noch nicht ganz reif sind und sich uns so noch in ihren Entwicklungsstadien zeigen.

Geht nun das hauchförmige Wachstum langsam vor sich, oder bleibt es sogar ganz aus (bei Trockenheit des Nährbodens oder Temperatur über 39°), so sind die oben geschilderten Verhältnisse naturgemäß schwieriger zu beobachten — im letzteren Falle natürlich gar nicht — da wegen des langsamen Weiterkriechens des Hauches die jüngeren Kolonien die älteren decken. Die Fäden zerfallen also schon an der Impfstelle.

Untersucht man die Bakterien einer Beimpfungsstelle, bevor sich ein Hauch gebildet hat, so findet man, obwohl hier doch auch ganz junge Bakterien sein müssen, nur vereinzelt Fäden und überwiegend Stäbchen. Der Grund dürfte wohl der sein, daß vor der Hauchbildung die in der H-Form immer vorhandene O-Form sich durch Stäbchenbildung vermehrt, oder, daß die H-Form wegen Anwesenheit der O-Form nur als Stäbchen wachsen kann. Beginnt nach einigen Stunden Bebrütung das proteusartige Wachstum, so findet man wieder nur Fäden. Also geht das hauchförmige Wachstum nur in Form von Fädenbildung vor sich. Streicht man dagegen eine reine O-Form auf der Platte aus, so bekommt man in einigen Stunden nur Stäbchen. Demnach wachsen die jungen Kulturen der reinen O-Form nur als Stäbchen. Ein ganz seltener, aber recht wichtiger Befund ist es, wenn man in aus einer reinen O-Form-Kultur hergestellten Präparaten auch vereinzelt Fäden findet. Es

kommt nämlich vor, wie das bereits Weil beschrieb, daß die O-Form in die H-Form zurückschlagen kann. Das Zurückschlagen beruht wohl auf diesen vereinzelt Fäden (siehe später). Die Fädenform ist die eigentliche H-Form und, wenn sich letztere unter der großen Zahl von O-Stäbchen vermehren kann, so schlägt eben die O-Form in die H-Form über, von der sie ja auch eigentlich stammt. Ein so vereinzelt vorkommender Faden kann auch aus mehreren O-Stäbchen bestehen.

II. Körnerbildung in der H-Form.

Bei den X-Stämmen ist noch eine eigenartige morphologische Veränderung zu konstatieren. Man stelle folgenden Versuch an: Beimpft man eine Agarplatte diameterartig mit dem gewöhnlichen X 19 und läßt sie dann bei 37° so lange bebrüten, bis der proteusartige Hauch die Platte noch nicht ganz bedeckt hat, so erreicht man damit, daß man die ganz jungen Bakterien am Rande untersuchen kann. Man findet dann lauter Fäden. Legt man die Platte jetzt in einen



Fig. 3. (Aufgenommen von Dr. F. Scropp mit Zeiß 2 mm-Apochromat, 2 Projektionsok. $100\times/1.$)

Thermostat, in dem die Temperatur 46–50° beträgt, so zeigt sich nach ungefähr 6–12ständiger Bebrütung folgende makroskopische Veränderung: Der Hauch glänzt an einigen Stellen

silberartig und ist nicht weitergebrochen. Ein Ausstrichpräparat vom Rande, das 1—2 Minuten mit einer Karbol-Fuchsin-Lösung (Ziehl) mit destilliertem Wasser 1:5 verdünnt gefärbt ist, zeigt Fig. 3. Man sieht fadenförmige Bakterien mit deutlichen Körnern, die viel intensiver gefärbt sind als der übrige Bazillenleib. Der Leib ist etwas gedunsen und macht an einigen Stellen den Eindruck einer Hülse, die die Körner umfaßt. Die Fäden verschwinden langsam, je weiter man vom Rande nach der im Zentrum gelegenen Impfstelle hin untersucht. In nächster Nähe des Zentrums und in ihm selbst findet man, wie bereits oben erwähnt, lauter Stäbchen ohne jede Körnelung. Im Gegensatz zur H-Form zeigt die O-Form bei Züchtung bei 46—50° keine Körnelung.

Um diese Körnerbildung der H-Form zu erklären, möchte ich auf folgendes hinweisen. Eine Reinkultur von X-Stämmen bzw. der H-Form derselben enthält in Wirklichkeit zwei Formen von Bazillen, nämlich die H- und die O-Form. Daß die O-Form neben der H-Form bzw. in der H-Form immer anwesend sein muß, ist dadurch bedingt, daß das Exanthematicus-Krankenserum, das nur O-Agglutinine enthält, doch die H-Form, richtiger gesagt, die in der H-Form befindliche O-Form agglutiniert. Ein weiterer Beweis für die Anwesenheit der O-Form in der H-Form ist auch die Tatsache, daß man aus der H-Form mit einer 33-proz. Alkohol-0,85-proz. Kochsalzlösung, der 0,5 Proz. Karbolsäure zugesetzt sind, die O-Form trennen kann¹⁾. Die Anwesenheit der O-Form könnte demnach die Körner bedingen, oder sie könnten auch Teilungsstücke der Bakterien sein.

III. Ueber das Zurückschlagen der Formen.

Nach Entdeckung der X-Stämme gelang es Weil und Felix, von älteren Proteusstämmen Kolonien zu isolieren, die das charakteristische proteusartige Wachstum verlieren und z. B. wie Typhus abdominalis-Kolonien wachsen. Vorher kannte man nur schwärmend wachsende Stämme. Weil konstatierte ferner, daß die O-Form nach etwa 10 Bouillonpassagen eventuell in die H-Form überschlagen kann.

1) Münch. med. Wochenschr., 1918, No. 43; Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 29, 1920, Heft 1—2, S. 48. (Weil.)

Beimpft man eine Agarplatte mit einer Oese eines O-Stammes mit mehreren Strichen, so bekommt man nach 24stündiger Bebrütung an einigen Strichen, insbesondere aber am letzten, ganz vereinzelt O-Kolonien. Das ist der bekannte regelmäßige Befund. Impft man eine derartige einzelne Kolonie auf Schrägagar oder auf eine Agarplatte weiter, so bekommt man ständig dieselbe O-Kultur. Ich impfte mehrere solcher Kolonien in Bouillon und in Peptonröhrchen, und fand, daß bei 1—2tägigem Weiterimpfen von 1—2 Kulturen diese monatelang reine O-Formen blieben. Zur Kontrolle wurden immer Platten beimpft, auf denen ein eventuelles Schwärmen ja sofort bemerkt werden mußte. Beimpft man mehrere Platten mit der O-Form und läßt sie nach 24stündigem Aufenthalt im Thermostat für mehrere Tage bei Zimmertemperatur, so sieht man, daß neben den O-Strichen ein von einem Punkte ausgehendes, hauchförmiges Wachstum beginnt. Dieser Hauch kann dann nach einigen Stunden die ganze Platte überwuchern oder auch in einigen Tagen langsam weiterwachsen und die scharfen Ränder der O-Striche teilweise unberührt lassen. Die Platte soll dann beobachtet werden, wenn der Hauch, wie Fig. 5a zeigt, von einem Punkt ausgehend sich entwickelt. Auf Grund dieser Beobachtung ist das Zurückschlagen der O-Formen nichts anderes als eine Fädenbildung, die von einem einzigen Punkt aus unter sehr vielen O-Bazillen ihren Ausgang nimmt. Der Hauch geht also von einem einzigen Faden aus, der wegen seines im Vergleich zu den O-Bazillen ungleich kräftigeren Wachstums und seiner Vermehrungsfähigkeit in kurzer Zeit die Platte und sogar die O-Form überwuchern kann. Der O-Bazillus schlägt also nicht im eigentlichen Sinne des Wortes in die H-Form über, denn die O-Form behält ihren Charakter; es bildet sich bloß unter einer großen Zahl regelmäßiger O-Bazillen ein anders gestalteter Bazillus, als Begründer einer ganzen Generation, die, verglichen mit den O-Bazillen, eine Mißbildung ist. Es sei nochmals betont, daß das Zurückschlagen nicht eine Veränderung der Bazillen ist, sondern eine Neubildung aus einer ganz neuen, anderen Form, die dann die erste (O-)Form vollständig überwuchert. Wie schon oben erwähnt, findet

man unter sehr vielen O-Stäbchen selten einen Faden, der wahrscheinlich der Ausgangspunkt der H-Form sein könnte. Ob dieser Faden zur weiteren Entwicklung gelangt, hängt davon ab, wo er gelegen ist. Befindet er sich direkt am Rande des Impfstriches, so können die relativ langsam wachsenden O-Bazillen das expansive Wachstum der H-Bazillen nicht zurückdrängen. Folgender einfache Versuch demonstriert das: Legt man einen etwa 1 cm im Durchmesser betragenden $\frac{1}{2}$ cm breiten Kreis von O-Bazillen auf einer Agarplatte an und läßt sie 1–2 Tage im Thermostat, so wachsen die Bazillen in Form eines Walles. Bringt man dann eine Oese H-Bazillen auf einen Punkt der freigebliebenen Mitte des Kreises, so können die H-Bazillen den sie einfassenden Ring von O-Bazillen nicht überwuchern. Mischt man jedoch an einer Stelle die H-Bazillen mit den O-Bazillen, so schwärmen erstere in kurzer Zeit über die ganze Platte.

Die Temperatur spielt auch eine äußerst wichtige Rolle. Während die H-Form bei Temperaturen unter 37° besser als die O-Form wächst, wird sie (die H-Form) mit steigender Temperatur sukzessive zurückgedrängt, während die O-Form besser gedeiht. Letztere wächst optimal bei $37\text{--}40^{\circ}$, wenn sie auf der Platte ohne H-Beimischung, also rein, ausgestrichen wird. Das Optimum der H-Form reicht nur bis 37° , so daß bei einer Temperatur über 37° sich die O-Form bei Mischung mit der H-Form auf Kosten derselben vermehrt.

Dies Verhalten der X-Stämme gegenüber verschiedenen Temperaturen erklärt, warum das Exanthematicus-Serum O-Agglutinine enthält, und warum beim Fleckfieberkranken, dessen Fieber ja $38\text{--}40^{\circ}$ beträgt, nur die O-Form-Infektion in Betracht kommt. Die H-Bazillen können allerdings auch gleichzeitig neben der O-Form anwesend sein, sind jedoch wegen der hohen Temperatur nicht imstande, sich gut zu vermehren.

IV. Beitrag zur Neoplasmaabildung.

Wie schon oben auseinandergesetzt wurde, geht die Entwicklung des *Bac. typhi exanthematici* folgendermaßen vor sich. In der H-Form des Bazillus ist die O-Form immer anwesend. Das ist nur so verständlich, daß die O-Form von

der H-Form stammt, sonst könnte sie (die O-Form) nicht immer neben letzterer vorkommen. Der H-Bazillus (Mutterzelle) entwickelt also stets und ständig zwei verschiedene Bazillen, nämlich H- und O-Bazillen. Die Abkömmlinge der neugebildeten H-Bazillen sind wieder einerseits H- und andererseits O-Bazillen. Vom O-Bazillus wissen wir, daß er nur als O-Bazillus weiterwächst. Wir haben also hierbei mit einem interessanten Entwicklungsvorgang zu tun, den ich im folgenden Schema (Fig. 4) wiedergebe. Aus einer Mutterzelle

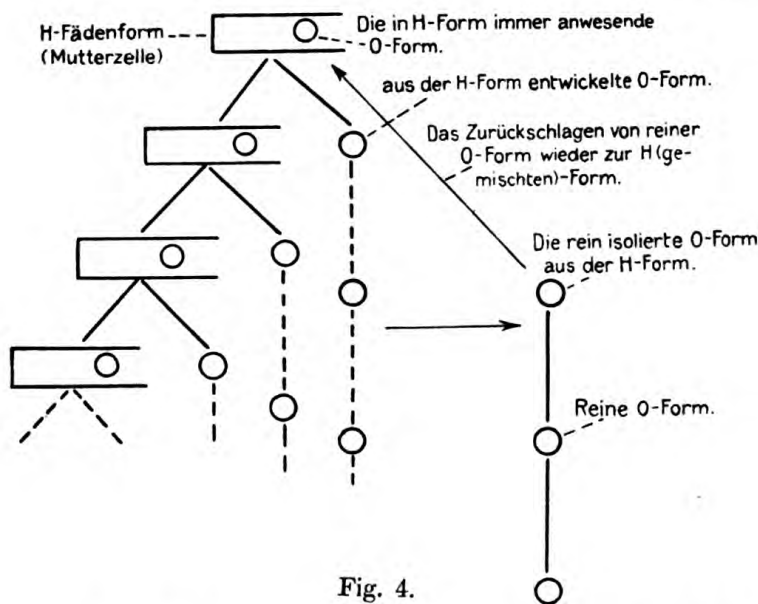


Fig. 4.

entwickeln sich zwei neue, sich ganz verschiedenartig weitervermehrende Zellen. Nun kann aber die zweite Art dieser Zellen, die O-Form, unter bestimmten Bedingungen in die H-Form zurückschlagen, ein Vorgang, auf den wir jetzt näher eingehen wollen. Von einer Bakterienkultur, die zweierlei Formen von Bakterien enthält, gelingt es, die eine Form, nämlich die O-Form, durch Weiterzüchten völlig zu isolieren. Diese isolierte Form wächst gleichförmig über Generationen monatelang. Plötzlich tritt unter der Unmenge von gleichmäßig verlaufenden Vermehrungen eine unregelmäßige Teilung auf, die unter geeigneten Verhältnissen die weitere Entwicklung der durch sie hervorgerufenen Bakterien bestimmt. Die neu entwickelten Bakterien sind

aber mit denen völlig identisch, von denen ihre Ahnen vor langen Generationen abstammten.

Vergleichen wir diese Verhältnisse mit der beim Menschen vorkommenden Neoplasmaabildung, so stoßen wir auf eine große Aehnlichkeit. Ich wurde auf sie aufmerksam, als ich beim Arbeiten mit zwei sich in bezug auf ihr Wachstum ganz verschieden verhaltenden Bakterien sah, daß die eine Bakterienform durch Zurückschlagen die andere zu überwachsen fähig war. Dieses Ueberwuchern, daß das Charakteristikum bei der Neoplasmaabildung und auch bei den oben erwähnten Bakterienformen bildet, wäre das verknüpfende

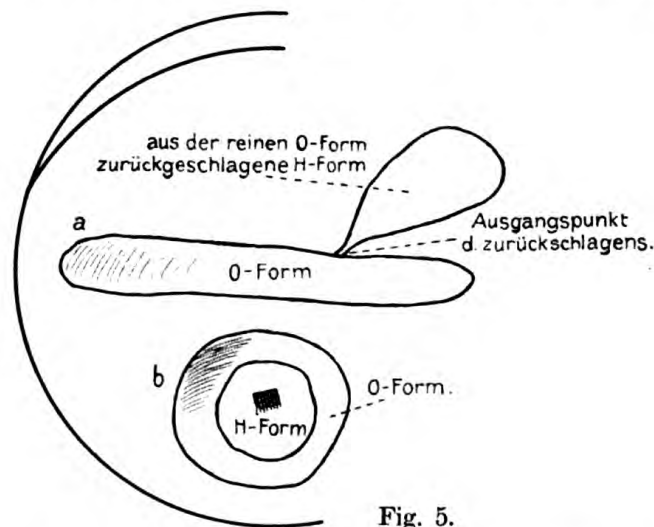


Fig. 5.

Band bei diesem Analogieschluß. Es ist nicht meine Absicht, in dieser Abhandlung auf die verschiedenen Theorien der Neoplasmaabildung einzugehen. Preiß entdeckte bereits, daß in Bakterien atypische Herde auftreten können, und vergleicht diese Herde mit der Neoplasmaabildung. Daß hier ein Atavismus vorliegt, konnte durch Untersuchungen mit den X-Formen gezeigt werden, und dadurch die wesentliche Frage beantwortet werden, welches der Grund des Auftretens dieser atypischen Herde eigentlich ist. Die Erkenntnis, daß das Zurückschlagen bzw. das Ueberwuchern der Zellen ein Atavismus ist, führt die Neoplasmaabildung zum Zellenatavismus zurück, und somit wäre die Karzinomfrage ein Analogon der Atavismusfrage geworden.

Nur gestützt auf die praktischen Erfahrungen der Neoplasmaabildung, möchte ich im folgenden die Frage weiter beleuchten. In der ganzen praktischen Neoplasmaabildung ist die frühzeitige Operation (a) als Hilfe bekannt. Es ist ferner zweifellos, daß ein Trauma (b), also eine Zellschädigung mit folgender Zellregeneration öfter dort vorausgegangen war, wo sich ein Neoplasma gebildet hatte. Der ganze Verlauf, das vermehrte Zellenwachstum und die nicht kontagiöse Natur einer Neoplasmaerkrankung zeigt, daß es sich um eine Geweberkrankung ohne jeden infektiösen Charakter handelt. Ferner sei noch erwähnt, daß die Neoplasmaabildung überwiegend in höherem Alter (c) vorkommt. — Die Berechtigung der frühzeitigen Operation wird durch Fig. 5 a und durch meine theoretischen Behauptungen folgendermaßen erklärt.

a) Das Auftreten der atypischen Zellen geht von einem einzigen Punkte aus. Gelingt es, diese Stelle zu entfernen, so bleibt das noch gesunde Gewebe völlig unberührt. Die Ueberwucherung beginnt zwar an einem Punkt (Zentrum), geht aber beim weiteren Wachsen nicht vom Zentrum, sondern von der Peripherie aus. Das Wachstum des Neoplasmas ist peripher. Wenn aus irgendeinem Grunde die erkrankten Zellen in die gesunden Gewebe verschleppt werden, so kommt es zur Bildung eines neuen Erkrankungsherd (Metastasenbildung). Ebenso ist es bei den X-Stämmen, wenn die H-Form (= Karzinomgewebe) auf eine Stelle mit O-Kultur (= gesundes Gewebe) stößt.

b) Mit einem Trauma ist eine reiche Neuzellenbildung verbunden, und damit die Wahrscheinlichkeit gegeben, daß unter den vielen normalen Zellen eine atypische Zelle auftreten kann. Sie wird besonders dann zur Entwicklung kommen, wenn das Gewebe in der Umgebung nicht mehr ganz widerstandsfähig ist.

c) Diese Resistenzschwäche der gesunden Zellen bei von Neoplasmaabildungen befallenen Individuen ist auf deren Alter zurückzuführen. Es spielt insofern eine Rolle, als sich im jugendlichen Alter ständig neue Zellen in großer Menge entwickeln, und wenn auch unter diesen vielen sich regelmäßig teilenden Zellen vereinzelt eine sich atypisch vermehrende Zelle auftritt, so kann sie wegen der starken Wachstums-

fähigkeit der anderen Zellen nicht zur Geltung kommen. Tritt aber ein Stillstand des regelmäßigen Wachstums ein, so können diese vereinzelt atypischen Zellen sehr wohl das Uebergewicht gewinnen. Dem Trauma entspricht bei den Kulturen teilweise das Weiterimpfen der O-Bazillen, so daß dadurch schon die Möglichkeit gegeben sein kann, daß ein H-Faden zur vollen Entwicklung kommen kann. Bei höherem Alter einer H-Kultur sehen wir auch ein Ueberwiegen der O-Form.

Daß die Neoplasmaabildung eine Gewebeerkrankung und nicht eine Erkrankung auf bakterieller Basis ist, wurde bereits früher erwähnt. Die im Laboratorium erzielten Resultate, denen Gewebetransplantationen zugrunde lagen, stehen damit im Einklang. Es wäre nun zu untersuchen, ob durch ständigen Reiz echte Neoplasmazellen hervorgerufen werden können.

Die gutartige Geschwulst entspricht jenen Bakterien, die bei der O-Form beschrieben wurden (Fäden aus lauter O-Bazillen). Sie stellen nämlich Zellen dar, die untereinander verknüpft sind, eine immerhin große Vermehrungsfähigkeit haben und bereits so differenziert sind, daß sie nicht mehr eine unbegrenzte Teilungsfähigkeit besitzen¹⁾.

Zusammenfassung.

Das bisher bekannte mikroskopische Bild der Weil-Felixschen X-Stämme (*Bac. typhi exanthematici*) entspricht den relativ älteren (12—24stündigen) Bakterien.

Die ganz jungen (3—6stündigen) Bakterien, die die proteusartig wachsende Form hervorbringt, sind ausschließlich Fäden.

Die X-Stämme zerfallen in Stäbchen, die sich auf zweierlei Art vermehren.

Die X-Stämme, insbesondere die ganz jungen Fäden, zeigen nach Bebrütung bei 50° eine Granulierung.

Das Zurückschlagen der O-Form in die H-Form ist ein Atavismus. Diese Erscheinung ist der Neoplasmaabildung sehr ähnlich (Zellenatavismus).

Das Zurückschlagen der Bakterien geht von einem einzigen Punkte aus.

1) Diese Untersuchungen hatte ich im Jahre 1920 in Budapest ausgeführt.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald
(Direktor: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Zur Komplementkonservierung, insbesondere in hyper- tonischer Salzlösung.

Von Dr. V. Scimone,

Assistent am Institut für medizinische Pathologie in Florenz.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. September 1922.)

Im Jahre 1908 veröffentlichte Friedberger¹⁾ eine Arbeit über das Verhalten der Komplemente in hyper-tonischen Salzlösungen, in der gezeigt wurde, daß sich hier das Komplement, sowohl bei Zimmertemperatur im Dunkeln als auch bei Tageslicht, bedeutend länger hält als das native ungesalzene Komplement. Eine vermehrte Resistenz gegen-über höherer Temperatur ließ sich nach der Besalzung jedoch nicht feststellen. Auch gegenüber dem Einfluß chemischer Schädigungen (Phenol) erwies sich das gesalzene Serum re-sistenter als das ungesalzene. Die optimale Salzkonzentration lag für das Kochsalz bei Zimmer- und Eisschranktemperatur über 6 Proz.

Friedberger empfahl deshalb für die Praxis zur Kon-servierung von Komplementseris allgemein 8-proz. Kochsalz-lösung zu verwenden. Durch Verdünnung mit der zehnfachen Menge destillierten Wassers erhält man dann auch am bequem-sten die isotonische Lösung für Zwecke des hämolytischen usw. Versuchs. Man darf nur die Verdünnung derart konservierter Sera nicht zu lange stehen lassen, da jetzt das früher „gepökelte“ Komplement nachträglich eine auffallende Labilität zeigt.

Neben dem des Kochsalzes wurde auch der Einfluß ver-schiedener anderer Salze auf die Komplementkonservierung untersucht, und zwar wurde so viel von den einzelnen Salzen zugesetzt, daß durchgehends zehnfache isotonische Lösungen

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 46, 1908, Heft 5.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 36.

erzielt wurden. Die Berechnung geschah auf 0,8-proz. Kochsalzlösung nach den auf Grund des de Vriesschen Koeffizienten bestimmten Werten. Bei diesen Versuchen ergab es sich, daß eine Reihe anorganischer Salze imstande ist, schon in wenigen Stunden das Komplement zu zerstören, das sind Magnesiumsulfat, Chlorcalcium, Kaliumjodat, Natriumjodat und Bariumchlorid. Am günstigsten gestaltet sich der konservierende Effekt bei Kaliumsulfat, Kaliumoxalat, Kaliumacetat und Kaliumnitrat, annähernd gleich günstig bei Kaliumchlorid. Doch war keins dieser Salze in seiner Wirkung dem Kochsalz deutlich überlegen.

Die Versuche der Komplementkonservierung in hypertonen Salzlösungen stellen gewissermaßen ein Gegenstück zu den bekannten Versuchen Ferratas¹⁾ dar, der im Anschluß an ältere Beobachtungen Buchners²⁾ zeigen konnte, daß in salzfreier resp. salzärmer Lösung, deren Isotonie für die Erythrozyten durch Rohrzuckerzusatz gewahrt ist, die Hämolyse trotz der Verankerung des Ambozeptors ausbleibt, da das Komplement seine Wirksamkeit verliert. Es beruht das auf der bekannten Trennung des Komplements in Mittel- und Endstück.

Nach Sachs und Teruuchi³⁾ kann bei längerer Einwirkung das Komplement in salzärmer Lösung sogar dauernd zerstört werden.

Von der Konservierung des Komplementes in hypertoner Kochsalzlösung ist sodann die Verhinderung der Komplementwirkung infolge mangelnder Komplementbindung im hypertonen Medium zu unterscheiden, wie sie von Manwaring, Hektoen und Rüdiger, Friedberger, Noguchi, Gengou, v. Dungern und Coca, Ruffer und Crendiropoulo, v. Eisler, Kiss, Pribram, Frouin und Ledebt u. a. untersucht worden ist. Diese mangelnde Verankerung des Komplements in hypertoner Lösung im Gegensatz zum Ambozeptor beruht wohl auf rein physikalischer Ursache, wenn auch Hektoen und Rüdiger, sowie Manwaring, an eine Bildung von unwirksamen Verbindungen zwischen Komplement und Salzen denken.

Die Untersuchungen Friedbergers über die Komplementkonservierung wurde 2 Jahre später von Massol und Nowaczinski⁴⁾, sowie von Massol und Grysez⁵⁾ bestätigt, ohne daß diese Autoren allerdings die vorausgegangenen Untersuchungen erwähnen.

- 1) Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 13.
- 2) Arch. f. Hyg., Bd. 17.
- 3) Wien. klin. Wochenschr., 1907, No. 16.
- 4) Soc. Biol. T. 69, 1910, p. 430.
- 5) Ebenda. T. 68, 1910.

Auch Austin¹⁾ beschreibt die Komplementkonservierung mit Kochsalz im Jahre 1914 als neu. Rhamy²⁾ hat dann speziell für die Komplementkonservierung zur Wassermannschen Reaktion das Natriumacetat empfohlen, das er in 10-proz. Lösung in 0,9-proz. Kochsalzlösung mit Meer-schweinchenserum auf 40 Proz. verdünnte. Er machte sich dabei die gleichfalls von Friedberger gefundene Tatsache zunutze, daß sich das Komplement in verdünntem Serum besser konservieren läßt als in konzentriertem Zustande. Die Methode von Rhamy wurde auch von Hammerschmidt³⁾ sowie von Dold⁴⁾ empfohlen. In ähnlicher Weise wirken nach ihm auch andere Salze (NaCl und Na-citricum) komplement-konservierend, jedoch soll das Natriumacetat dem Kochsalz und dem Na-citricum darin weit überlegen sein. Auch Dold war damals die Angabe Friedbergers über die Konservierung durch Kochsalz und andere Salze nicht bekannt. (Vgl. dazu die spätere Notiz von Dold.)

Die Angabe von Dold, daß das Natriumacetat in seiner konservierenden Wirkung dem Natriumchlorid weit überlegen sei, veranlaßt mich, auf Anregung von Herrn Prof. Friedberger, im Rahmen anderweitiger Untersuchungen, über Komplement vergleichende Untersuchungen mit diesen beiden Salzen anzustellen. Die Angabe Dolds ist um so auffallender, als gerade das Kaliumacetat nach den vergleichenden Untersuchungen, die Friedberger mit einer großen Zahl von Salzen angestellt hat, dem Kochsalz eher etwas unterlegen war. Das Natriumacetat war damals nicht geprüft worden.

Zunächst wurde auch der Versuch mit Kochsalzlösung und Natriumacetat vergleichend in analoger Weise angestellt, wie von Rhamy mit dem Natriumacetat allein. Es wurden 10 g Natriumacetat in 100 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung und eine äquimolekulare Menge von Natriumchlorid in Substanz (4,30 g) in 100 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgelöst. Daß diese beiden Lösungen nicht nur in der Berechnung äquivalent

1) The Journal A. M. A., 1914, p. 868.

2) The Journal A. M. A., Vol. 69, 1917.

3) Münch. med. Wochenschr., 1920, No. 48, S. 1382.

4) Deutsche med. Wochenschr., 1920, No. 3, S. 62.

waren, sondern auch bezüglich der Isotonie sich gleich verhielten, wurde durch Versuche mit Blutkörperchen in der Hamburgerschen Anordnung nochmals festgestellt. Genau wie bei Rhamy wurden nun diese beiden Lösungen im Verhältnis 6:4 mit Komplement versetzt und bei Zimmertemperatur in wohlverschlossenen Gefäßen aus Jenaer Glas im Dunkeln aufbewahrt und das Komplement unter Verwendung von 5 lösenden Ambozeptordosen eines Hammelblut-Ambozeptors und 5-proz. Hammelblut an verschiedenen Tagen ausgewertet. Als Beispiel sei die Auswertung am 6. Tag in der folgenden Tabelle mitgeteilt.

Tabelle I.

| Komplement 40 % | NaCl-Lös. 0,85 % | Ambozeptor 5fach. Titer | Blutkörperch. 5 % | | NaCl | Natriumacetat |
|--------------------|---------------------|-------------------------------|----------------------|----------------------------------|---------------------|---------------------|
| 0,25 | 0,75 | 1 ccm | 1 ccm | Brut- schrank 2 Stunden im | +++ | +++ |
| 0,20 | 0,80 | dgl. | dgl. | | +++ | +++ |
| 0,15 | 0,95 | " | " | | +++ | +++ |
| 0,10 | 0,90 | " | " | | ++ | ++ |
| | | | | | (ganz kleine Kuppe) | (ganz kleine Kuppe) |
| 0,05 | 0,95 | " | " | | ++— | ++— |
| 0,025 | 1,75 | " | " | | — | — |
| — | 1,0 | " | " | | — | — |
| — | 1,0 | " | " | | — | — |
| | | | | | | |

Tabelle II.

| Tage | Komplementtiter in | |
|------|--------------------|---------------|
| | NaCl | Natriumacetat |
| I | 0,02 | 0,02 |
| IV | 0,06 | 0,06 |
| VI | 0,06 | 0,06 |
| VIII | 0,06 | 0,06 |
| X | 0,08 | 0,06 |
| XII | 0,08 | 0,1 |
| XV | < 0,1 | < 0,1 |

Aus diesen Tabellen ergibt sich, daß bis zum 8. Tag sich das Komplement in Natriumacetat und Kochsalzlösung vollkommen gleich verhält, dann macht sich ein minimaler Unterschied am 10. Tage zugunsten des Natriumacetats bemerkbar, am 12. Tage dagegen zugunsten NaCl, beide dürften aber kaum wesentlich außerhalb der Versuchsfehlergrenzen liegen, denn am 15. Tag war der Titer wieder der gleiche.

In weiteren Versuchen hatte ich die Versuchsanordnung von Friedberger benutzt, d. h. zu dem unverdünnten Komplement so viel Kochsalz, bzw. Natriumacetat in Substanz zugesetzt, daß jedesmal eine vierfach isotonische Lösung resultierte. Diese Komplementsalzmischung wurde im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt und an mehreren Tagen auf ihren Komplementtiter in gleicher Weise wie vorher ausgewertet, nachdem mittels destillierten Wassers die Isotonie hergestellt war. Das Ergebnis zeigt die nachstehende Tabelle.

Tabelle III.

| Tage | Komplementtiter | |
|------|-----------------|---------------|
| | NaCl | Natriumacetat |
| I | 0,02 | 0,02 |
| IV | 0,1 | 0,1 |
| VI | 0,1 | 0,1 |
| VIII | < 0,1 | < 0,1 |

Sie lehrt, daß unter diesen Bedingungen das Kochsalz sich dem Natriumacetat als völlig gleichwertig erwiesen hat. Wir haben allerdings einen Versuch zu verzeichnen, in dem Natriumacetat sich am 6. Tag etwas überlegen erwies, hier aber war die Kochsalzprobe bereits in faulige Zersetzung übergegangen.

Der Angabe, daß sich das Natriumacetat dem Natriumchlorid wesentlich überlegen bei der Komplementkonservierung erweist, können wir also eine allgemeine Gültigkeit nicht zusprechen.

In weiteren Versuchen sollte nun festgestellt werden, ob das Komplement unter Verwendung isotonischer Lösung sich in Ringerlösung, in Thyrodelösung und in dem von Straub hergestellten Normosal besser hält als in physiologischer Kochsalzlösung. Zum Vergleich wurde auch noch die isotonische Natriumacetatlösung herangezogen.

Wie es den Physiologen und Pharmakologen ja bekannt ist, ist die sogenannte physiologische Kochsalzlösung keineswegs indifferent, sondern ist, wie die Untersuchungen von Ringer, Thyrode und anderen an überlebenden Organen festgestellt haben, geradezu giftig. Sie konserviert zwar die Form des Organes, schädigt aber bedeutend dessen Funktionen. Bei der Ringerschen Lösung, bei der unter Anlehnung an die Aschenanalysen des Blutes außer dem Natriumchlorid noch Chlorkalium, Calcium-

chlorid, Natriumbikarbonat, Magnesiumchlorid zugesetzt wird, und ebenso bei der Tyrodelösung sind diese Nachteile vermieden. Auch bei der Zusammensetzung des Serumsalzes Normosal ist die Ionenanalyse des Blutsersums zugrunde gelegt.

Es war von vornherein zu erwarten, daß sich auch das Komplement in derartigen Lösungen besser hielte als in der reinen Kochsalzlösung. Bei diesen Versuchen wurde die betreffende Flüssigkeit mit Komplement 1:10 versetzt und wiederum im Dunkeln und eine Quote auch bei Tageslicht aufbewahrt, sowie eine dritte der Einwirkung des ultravioletten Lichtes unterworfen.

Wir können uns bezüglich dieser Versuche ganz kurz fassen. Es ergab sich keine bessere Konservierung des Komplements in den vorerwähnten Lösungen, als in der reinen physiologischen Kochsalzlösung.

Zusammenfassung.

1) Das Komplement von Meerschweinchen hält sich in verdünntem Zustand länger aktiv bei Aufbewahrung in konzentrierten Lösungen von Natriumchlorid (nach Friedberger) oder Natriumacetat (nach Rhamy). Ein deutlicher Unterschied zwischen beiden Salzen besteht nicht.

2) Bei Zusatz von Natriumchlorid bzw. Natriumacetat in Substanz (4fache isotonische Lösung) zum Komplement ist die Haltbarkeit geringer, aber doch gleich für beide Salze.

3) Tyrodelösung, Ringerlösung, Normosal konservieren das Komplement bei Verdünnung von 1:10 nicht besser als physiologische Kochsalzlösung oder Natriumacetatlösung. Auch gegenüber Tageslicht und ultravioletten Strahlen wirken sie nicht besser konservierend.

Nachdruck verboten.

[Aus dem biochemischen Laboratorium der Vereinigten Fabriken
für Laboratoriumsbedarf, Berlin.]

Die fettspaltenden Fermente der Bakterien.

Von **L. Michaelis** und **Y. Nakahara** (Tokyo).

Mit 16 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. September 1922.)

Seit dem Beginn der bakteriologischen Forschung erkannte man, daß das Ranzigwerden der Butter und des Oeles auf der Wirkung von Bakterien beruht, und es wurde frühzeitig eine ganze Reihe von Mikroorganismen isoliert, welche imstande waren, Butter ranzig zu machen. Dies fand z. B. Reinmann für den *B. fluorescens*, *Streptothrix alba* und einen Sproßpilz. Laxa fand die gleiche Eigenschaft bei Arten von *Oidium*, *Penicillium* und *Mucor* und verwendete als spaltbares Substrat außer Butterfett auch Monobutyrin. Schreiber isolierte aus dem Boden mehrere fettspaltende Bakterien, und Rubner wies nach, daß die Spaltung der Fette in den Abfallstoffen pflanzlicher und besonders tierischer Herkunft, die in den Boden gelangen, durch Mikroorganismen geschieht. Zum Nachweis der Fettspaltung wurde die Analyse der gebildeten reinen Fettsäure benutzt, sei es direkt in alkoholischer Lösung, sei es nach Extraktion der Fettsäure durch Aether. Ausführlich hat sich Schenker mit der Lipase des *Aspergillus niger* beschäftigt, er fand als Optimum für die Spaltung die neutrale oder schwach saure Reaktion und beobachtete, daß dieser Schimmelpilz auf fetthaltigen Nährböden mehr Lipase bildet, als auf fettfreien. Escherich isolierte aus dem Milchkot von Säuglingen folgende Bakterien, welche MilCHFett spalteten: *B. coli*, *B. subtilis*, *B. lactis aërogenes*, *Streptococcus gracilis*. v. Sommaruga fand unter den Bakterien besonders *B. pyocyaneus* und *Micrococcus tetragenus* gegen Fett wirksam. Eijkman beobachtete die Wirkung, indem er auf eine in dünner Schicht erstarrte Oberfläche von Rindertalg den geimpften Nährboden aufgoß; die Spaltung des Fettes zeigte sich durch die Trübung der gebildeten Kalkseife. Auf diese Weise fand er fettspaltende Wirkung bei *Streptococcus pyogenes aureus*, *B. pyocyaneus*, *B. prodigiosus*, *B. fluorescens* und einigen anderen. Auch Söngen hat die Wirkung an dünnen Talgschichten studiert, mit denen er die Innenseite eines Reagenzglases überzog. Carrière vermischte eine sechsmonatige Bouillonkultur des Tuberkelbazillus mit Monobutyrinlösung und fand nach 20 Minuten Aufenthalt im Brutschrank eine Zunahme der Titrationsazidität. Er beobachtete eine Zunahme des

fettpaltenden Vermögens mit dem Alter der Kultur. Kendal, Walker und Day haben in Glycerin- und Mannitbouillonkulturen verschiedener säurefester Bakterien, darunter Menschen-, Rinder- und Geflügeltuberkelbazillen, Smegma- und Leprabazillen, fettpaltendes Ferment nachgewiesen, das Aethylbutyrat und in geringem Maße Rizinusöl spaltet.

Die vor einigen Jahren von Rona und Michaelis beschriebene Tropfmethode mit Tributyrin gestattet nun den Nachweis und die Erforschung der Kinetik und der Wirkungsbedingungen der fettpaltenden Fermente in viel einfacherer Weise, als es mit den früheren Methoden möglich war. Wir stellten uns deshalb die Aufgabe, eine Reihe von Bakterien, namentlich auch von pathogenen Bakterien, mit dieser Methode auf ihr fettpaltendes Vermögen zu untersuchen. In dem Material an Bakterienstämmen wurden wir dabei von dem Kochschen Institut in Berlin in dankenswerter Weise unterstützt.

Die Bakterien wurden sämtlich auf einem Nähragar von $p_H = 7,0$ gezüchtet, die Nährböden wurden nach der Modifikation von Michaelis unter Anwendung von 2 g sekundärem Natriumphosphat pro Liter hergestellt und ihr p_H durch HCl oder NaOH eingestellt. Das p_H wurde nach der vereinfachten Indikatorenmethode ohne Puffer nach Michaelis bestimmt.

Die für die Untersuchung der Fettspaltung erforderliche Tributyrinlösung wurde hergestellt, indem ein Phosphatgemisch nach der Sørensen'schen Vorschrift von $p_H = 7,0$ mit 4 Teilen Wasser und einigen Tropfen Tributyrin versetzt, 10 Minuten geschüttelt und dann filtriert wurde. Von den Bakterien wurde die Ausbeute einer 24stündigen Agarkultur in 5 ccm genau der gleichen Phosphatlösung, nur ohne Tributyrinzusatz, aufgeschwemmt und 2 ccm dieser Aufschwemmung stets mit 8 ccm der gesättigten Tributyrinlösung versetzt. Dieses Gemisch ist in den unten stehenden Protokollen stets mit I bezeichnet. Die mit II bezeichneten Versuche unterscheiden sich von den ersten dadurch, daß die Bakterienaufschwemmungen vor ihrem Zusatz mit Tributyrinlösung 10 Minuten lang gekocht wurden. Die mit III bezeichneten Versuche enthalten bakterienfreie Phosphatgemische zur Kontrolle. Die so beschickten Röhrchen wurden in den Brutschrank gestellt und in gewissen Abständen nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur die Tropfenzahl bestimmt. Andererseits wurde an

reinen Tributyrinlösungen eine Eichkurve angelegt, welche die Tropfenzahl als Funktion der Tributyrinkonzentration darstellte, wobei die Konzentration der gesättigten Lösung gleich 100 gesetzt wurde. In den Tabellen sind überall zunächst die Tropfenzahlen angegeben, sodann die auf Grund der für jede Pipette vorhandenen Eichkurve berechneten Konzentrationen an Tributyrin notiert. Der Anfangswert beträgt, da überall die gesättigte Tributyrinlösung mit einem Viertel ihres Volumens mit Bakterienaufschwemmung verdünnt wurde, 80 Proz. der vollen Sättigung.

Die Kontrollversuche ohne Bakterien dienten dazu, um zu zeigen, daß die Spaltung des Tributyrins nicht durch das Phosphatgemisch allein zustande gekommen sei. Die anderen Kontrollversuche mit den gekochten Bakterien hatten ursprünglich den Zweck, zu beweisen, daß das Verschwinden des Tributyrins auf einer Spaltung desselben und nicht auf einer Adsorption durch die Bakterienleiber beruht. Im allgemeinen zeigte es sich, daß diese Art der Kontrolle für den gedachten Zweck gut brauchbar ist. In allen Fällen ist ein wesentlicher Unterschied in der Veränderung des Tributyringehaltes nur mit den nichtgekochten Bakterien zu beobachten, jedoch zeigen sich kleine Aenderungen auch mit gekochten Bakterien. Ganz besonders wird beim *Staphylococcus albus* die Abnahme des Tributyringehaltes durch das Kochen der Bakterien verhältnismäßig wenig beeinflußt. Von vornherein konnte man sich zwei Ursachen für dieses Verhalten denken, entweder sind die Fermente ziemlich unempfindlich gegen die Erhitzung, oder das Verschwinden des Tributyrins beruht in diesen Fällen überhaupt nicht auf einer Spaltung, sondern auf einer Adsorption, wobei es dahingestellt sein soll, ob es sich um eine eigentliche Oberflächenadsorption oder um eine Lösung in den Lipoiden der Bakterien handelt. Um die Entscheidung dieser zwei Möglichkeiten herbeizuführen, stellten wir folgende Versuche an:

Es wurden ganz gleiche Versuche wie vorher angesetzt, und zwar mit lebenden Bakterien, aber mit Oktylalkohol an Stelle von Tributyrin. Jede Spur von Adsorptionsfähigkeit für oberflächenaktive oder lipoidlösliche Stoffe mußte sich an Oktylalkohol ebenso gut zeigen, wie an Tributyrin,

während eine Spaltung beim Oktylalkohol nicht in Frage kommt.

Es zeigte sich nun, daß der Oktylalkohol durch den Zusatz der Bakterien in meßbarer Menge aus der Lösung nicht verschwindet, und hiermit ist gleichzeitig bewiesen, daß unter den von uns gewählten Mengenverhältnissen und Versuchsbedingungen ein Verschwinden von Tributyrin durch Adsorption nicht in Frage kommt. Diese Kontrolle mit Oktylalkohol ist um so beweisender, als Oktylalkohol eher noch besser adsorbierbar ist, als Tributyrin; er gehört zu den am stärksten oberflächenaktiven Stoffen, die es überhaupt gibt. Wenn wir nun in den Versuchen mit den gekochten Bakterien bei manchen Bakterienarten nach dem Kochen einen deutlichen Rest von fettspaltender Wirkung übrig behielten, so kann das also nur dadurch erklärt werden, daß die fettspaltenden Fermente dieser Bakterien ziemlich resistent gegen das Erwärmen sind.

Von den vielen Versuchen wird hier nur das Resultat eines Versuches von je einer Art der Bakterien wiedergegeben.

1. *B. pyocyaneus*. (Kurve 1.)

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 146,0 | 130,0 | 137,0 | 80 % | 80 % | 80 % |
| Nach 1 Stunde | 112,5 | 126,0 | 137,0 | 16 " | 68 " | 80 " |
| " 2 Stunden | 111,5 | 125,0 | 137,0 | 15 " | 66 " | 80 " |
| " 3 " | 110,5 | 124,0 | 137,0 | 14 " | 64 " | 80 " |
| Wasserwert der Pipette | 96,0 | 90,5 | 92,0 | | | |

2. *Vibrio Metschnikoff*. (Kurve 2.)

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 146,0 | 131,0 | 135,5 | 76 % | 76 % | 76 % |
| Nach 1 Stunde | 123,0 | 125,0 | 135,5 | 30 " | 59 " | 76 " |
| " 2 Stunden | 118,0 | 119,0 | 134,5 | 22 " | 46 " | 75 " |
| " 3 " | 117,0 | 119,0 | 134,5 | 21 " | 46 " | 75 " |
| Wasserwert der Pipette | 96,5 | 91,0 | 92,0 | | | |

3. *B. prodigiosus*. (Kurve 3.)

(Die Kultur bei Zimmertemperatur gezüchtet.)

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 133,0 | 146,5 | 127,0 | 80 % | 80 % | 80 % |
| Nach 1 Stunde | 122,5 | 144,0 | 127,0 | 52 " | 77 " | 80 " |
| " 2 Stunden | 115,5 | 142,5 | 127,0 | 36 " | 71 " | 80 " |
| " 3 " | 110,0 | 142,0 | 127,0 | 27 " | 70 " | 80 " |
| " 4 " | 106,0 | 142,0 | 127,0 | 20 " | 70 " | 80 " |
| Wasserwert der Pipette | 91,0 | 96,0 | 89,0 | | | |

4. Obergärige Bierhefe, Rasse XII. (Kurve 4.)

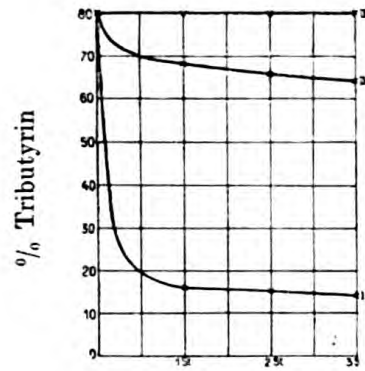
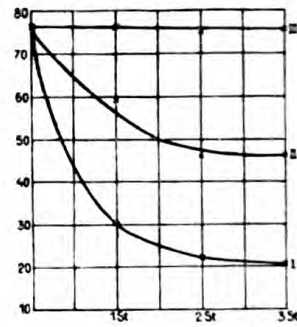
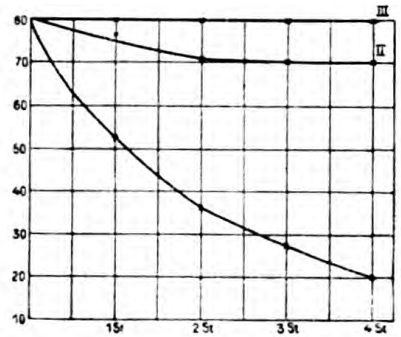
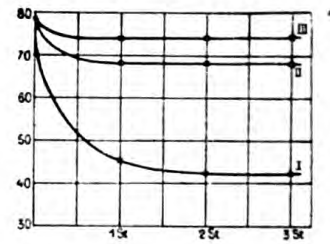
Diese Hefe erhielten wir aus dem Gärungsinstitut in Berlin als Preßhefe. 100 mg Preßhefe wurden mit 5 ccm Phosphatgemisch, das zur Herstellung der Bakterienaufschwemmung gebraucht wurde, emulsiert.

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 135,0 | 129,0 | 134,0 | 78 % | 78 % | 78 % |
| Nach 1 Stunde | 121,0 | 126,0 | 133,0 | 45 " | 68 " | 74 " |
| " 2 Stunden | 120,0 | 126,0 | 133,0 | 42 " | 68 " | 74 " |
| " 3 " | 120,0 | 126,0 | 133,0 | 42 " | 68 " | 74 " |
| Wasserwert der Pipette | 92,0 | 90,5 | 91,5 | | | |

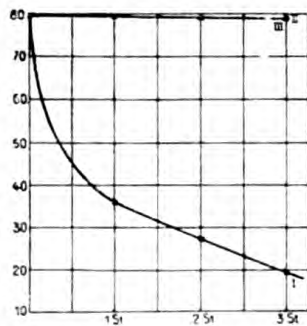
5. Stäbchen X. (Kurve 5.)

Dieses Stäbchen wurde in unserem Laboratorium isoliert. Dies ist ein dickes, großes Stäbchen, sporenbildend und gramnegativ, andere Eigenschaften sind noch nicht festgestellt; es wuchs spontan in Kaseinlösungen.

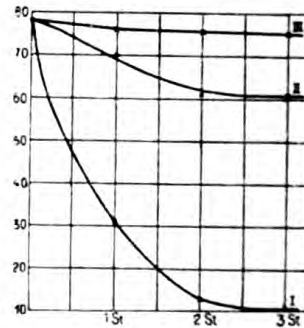
| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 151,0 | 126,5 | 132,5 | 80 % | 80 % | 80 % |
| Nach 1 Stunde | 130,0 | 126,0 | 132,0 | 30 " | 79 " | 79 " |
| " 2 Stunden | 124,0 | 126,0 | 132,0 | 27 " | 79 " | 79 " |
| " 3 " | 118,0 | 126,0 | 132,0 | 19 " | 79 " | 79 " |
| Wasserwert der Pipette | 97,5 | 89,0 | 91,0 | | | |

Kurve 1. *B. pyocyaneus*.Kurve 2. *Vibr. Metschnikoff*.Kurve 3. *B. prodigiosus*.

Kurve 4. Obergärige Bierhefe.



Kurve 5. Stäbchen X (Heubazillen).

Kurve 6. Tuberkelbazillen
(Typus humanus, Agarkultur).

6. Tuberkelbazillen (Typus humanus, Kultur auf Glyzerinagar).
(Kurve 6.)

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 135,0 | 146,0 | 129,0 | 78 % | 78 % | 78 % |
| Nach 1 Stunde | 114,0 | 144,0 | 128,0 | 31 " | 70 " | 76 " |
| " 2 Stunden | 103,5 | 140,5 | 128,0 | 13 " | 61 " | 76 " |
| " 3 " | 102,0 | 139,0 | 127,0 | 11 " | 60 " | 75 " |
| Wasserwert der Pipette | 92,0 | 96,5 | 90,5 | | | |

5 Oesen von Tuberkelbazillenkultur wurden in der Reibeschale fein zerrieben und dazu 5 ccm Phosphatgemisch von p_H 7 zugesetzt.

7. Tuberkelbazillen (Typus humanus, Kultur in Bouillon).
(Kurve 7.)

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 134,5 | 147,5 | 128,0 | 78 % | 78 % | 78 % |
| Nach 1 Stunde | 132,5 | 146,0 | 128,0 | 71 " | 72 " | 78 " |
| " 2 Stunden | 131,5 | 146,0 | 128,0 | 69 " | 72 " | 78 " |
| " 3 " | 131,5 | 146,0 | 128,0 | 69 " | 72 " | 78 " |
| Wasserwert der Pipette | 91,0 | 96,5 | 90,0 | | | |

8. Tuberkelbazillen (Typus bovinus, Kultur auf Glyzerinagar).
(Kurve 8.)

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 133,5 | 145,5 | 127,5 | 78 % | 78 % | 78 % |
| Nach 1 Stunde | 120,0 | 143,0 | 126,0 | 44 " | 67 " | 75 " |
| " 2 Stunden | 113,0 | 142,0 | 126,0 | 30 " | 65 " | 75 " |
| " 3 " | 110,0 | 142,0 | 126,0 | 25 " | 65 " | 75 " |
| Wasserwert der Pipette | 91,5 | 96,0 | 90,0 | | | |

9. Staphylococcus aureus. (Kurve 9.)

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 133,0 | 148,5 | 148,5 | 79 % | 79 % | 79 % |
| Nach 1 Stunde | 106,5 | 143,5 | 145,5 | 21 " | 63 " | 70 " |
| " 2 Stunden | 100,5 | 142,0 | 145,0 | 8 " | 60 " | 70 " |
| " 3 " | 96,5 | 139,5 | 145,0 | 4 " | 54 " | 70 " |
| Wasserwert der Pipette | 91,0 | 96,5 | 96,5 | | | |

10. *Staphylococcus albus*. (Kurve 10.)

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 128,0 | 149,5 | 147,0 | 80 % | 80 % | 80 % |
| Nach 1 Stunde | 100,5 | 122,0 | 144,0 | 18 " | 25 " | 70 " |
| " 2 Stunden | 98,0 | 120,5 | 142,5 | 7 " | 22 " | 67 " |
| " 3 " | 94,0 | 119,2 | 142,0 | 2 " | 21 " | 67 " |
| Wasserwert der Pipette | 89,5 | 96,5 | 96,0 | | | |

Der Versuch über die Adsorption von Oktylalkohol durch Bakterien.

| | I | II | III |
|---------------------------------------|--------------------------|---------|---------|
| Beliebig verdünnte Oktylalkohollösung | 9,0 ccm | 9,0 ccm | 9,0 ccm |
| Gekochte Emulsion | 0,0 " | 1,0 " | 0,0 " |
| Lebende Emulsion | 1,0 " | — | — |
| Aqua dest. | — | — | 1,0 " |
| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | |
| Unmittelbar nach Vermischen | 129,0 | 129,0 | 129,0 |
| Nach 1 Stunde | 128,0 | 129,0 | 128,0 |
| " 2 Stunden | 128,0 | 129,0 | 128,0 |
| Wasserwert der Pipette | 95,0 | 95,0 | 95,0 |

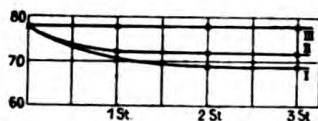
11. Diphtheriebazillen.

Die zwei Kulturen auf Löfflerschem Blutserum wurden mit 5 ccm Phosphatgemisch versetzt und fein emulsiert.

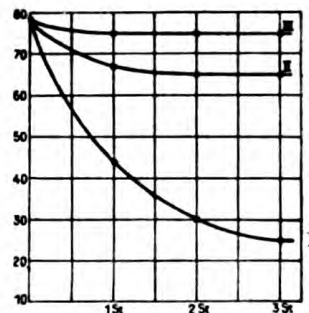
| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 137,0 | 148,0 | 127,0 | 80 % | 80 % | 80 % |
| Nach 1 Stunde | 136,0 | 148,0 | 127,0 | 78 " | 80 " | 80 " |
| " 2 Stunden | 136,0 | 148,0 | 127,0 | 78 " | 80 " | 80 " |
| " 3 " | 136,0 | 148,0 | 127,0 | 78 " | 80 " | 80 " |
| Wasserwert der Pipette | 92,0 | 96,5 | 89,0 | | | |

12. Dysenteriebazillen (Flexner). (Kurve 11.)

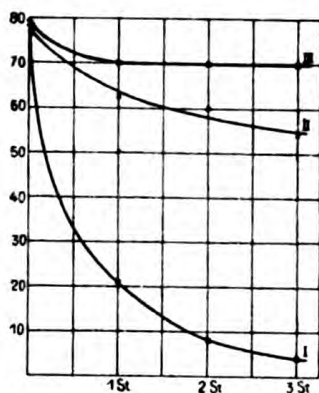
| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 135,0 | 153,5 | 137,5 | 77 % | 77 % | 77 % |
| Nach 1 Stunde | 133,0 | 152,0 | 135,5 | 72 " | 73 " | 77 " |
| " 2 Stunden | 132,0 | 152,0 | 134,5 | 70 " | 73 " | 76 " |
| " 3 " | 132,0 | 152,0 | 134,5 | 70 " | 73 " | 76 " |
| Wasserwert der Pipette | 92,0 | 102,0 | 93,0 | | | |



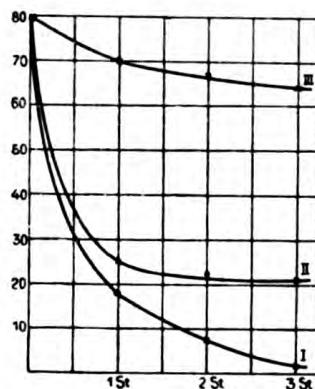
Kurve 7. Tuberkelbazillen
(Typus humanus, Bouillonkultur).



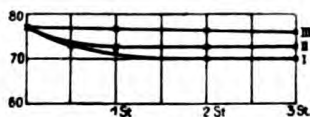
Kurve 8. Tuberkelbazillen
(Typus bovinus, Agarkultur).



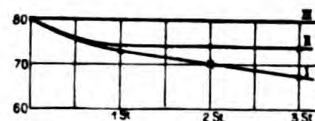
Kurve 9. Staphylococcus aureus.



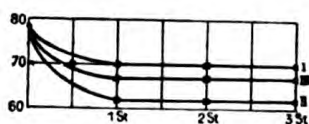
Kurve 10. Staphylococcus albus.



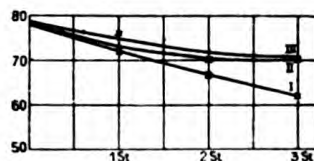
Kurve 11. B. dysent. Flexner.



Kurve 12. B. dysent. Y.



Kurve 13. B. coli commune.



Kurve 14. Typhusbazillen.

13. Dysenteriebazillen (Y). (Kurve 12.)

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 135,0 | 155,5 | 137,0 | 80 % | 80 % | 80 % |
| Nach 1 Stunde | 132,0 | 152,5 | 137,0 | 73 " | 74 " | 80 " |
| " 2 Stunden | 131,0 | 152,5 | 137,0 | 70 " | 74 " | 80 " |
| " 3 " | 130,0 | 152,5 | 137,0 | 68 " | 74 " | 80 " |
| Wasserwert der Pipette | 91,5 | 102,0 | 92,0 | | | |

14. Dysenteriebazillen (Shiga-Kruse).

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 134,0 | 148,0 | 128,0 | 79 % | 79 % | 79 % |
| Nach 1 Stunde | 132,0 | 147,0 | 127,0 | 73 " | 76 " | 76 " |
| " 2 Stunden | 131,5 | 147,0 | 127,0 | 72 " | 73 " | 76 " |
| " 3 " | 131,5 | 146,0 | 126,5 | 72 " | 73 " | 74 " |
| Wasserwert der Pipette | 91,5 | 96,5 | 90,0 | | | |

15. B. coli commune. (Kurve 13.)

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 133,5 | 149,0 | 151,0 | 78 % | 78 % | 78 % |
| Nach 1 Stunde | 131,0 | 143,0 | 147,0 | 70 " | 62 " | 67 " |
| " 2 Stunden | 131,0 | 143,0 | 147,0 | 70 " | 62 " | 67 " |
| " 3 " | 131,0 | 143,0 | 147,0 | 70 " | 62 " | 67 " |
| Wasserwert der Pipette | 91,5 | 97,5 | 98,5 | | | |

16. Typhusbazillen. (Kurve 14.)

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 138,0 | 148,5 | 130,0 | 78 % | 78 % | 78 % |
| Nach 1 Stunde | 136,0 | 147,5 | 129,0 | 72 " | 76 " | 76 " |
| " 2 Stunden | 134,0 | 145,0 | 127,0 | 67 " | 70 " | 72 " |
| " 3 " | 133,0 | 145,0 | 127,0 | 62 " | 70 " | 70 " |
| Wasserwert der Pipette | 93,0 | 97,5 | 90,5 | | | |

17. Paratyphus A-Bazillen.

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 137,5 | 148,0 | 129,8 | 80 % | 80 % | 80 % |
| Nach 1 Stunde | 137,0 | 147,5 | 129,0 | 79 „ | 79 „ | 79 „ |
| „ 2 Stunden | 135,0 | 145,0 | 128,0 | 76 „ | 76 „ | 76 „ |
| „ 3 „ | 135,0 | 145,0 | 128,0 | 76 „ | 76 „ | 76 „ |
| Wasserwert der Pipette | 92,0 | 96,5 | 90,5 | | | |

18. Paratyphus B-Bazillen.

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 135,0 | 147,5 | 128,5 | 77 % | 77 % | 77 % |
| Nach 1 Stunde | 133,5 | 145,5 | 128,0 | 73 „ | 73 „ | 76 „ |
| „ 2 Stunden | 133,0 | 145,5 | 128,0 | 72 „ | 73 „ | 76 „ |
| „ 3 „ | 133,0 | 145,5 | 128,0 | 72 „ | 73 „ | 76 „ |
| Wasserwert der Pipette | 92,0 | 96,5 | 90,5 | | | |

19. Idenbazillen.

| Zeit | Tropfenzahl nach Stunden | | | Vorhandenes Tributyrin in Proz. nach Stunden | | |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | I | II | III | I | II | III |
| Unmittelbar nach Vermischen | 133,0 | 147,5 | 149,0 | 80 % | 78 % | 78 % |
| Nach 1 Stunde | 127,0 | 143,5 | 147,0 | 67 „ | 68 „ | 73 „ |
| „ 2 Stunden | 127,0 | 143,5 | 146,5 | 65 „ | 67 „ | 71 „ |
| „ 3 „ | 124,0 | 142,0 | 146,0 | 55 „ | 63 „ | 69 „ |
| Wasserwert der Pipette | 91,0 | 96,0 | 97,0 | | | |

Das fettspaltende Ferment wurde bei Tuberkelbazillen, *B. prodigiosus*, *Vibrio Metschnikoff*, einem saprophytischen Stäbchen, und Eiterkokken, d. h. *Staphylococcus albus* und *aureus*, *B. pyocyaneus* und dazu einer Bierhefe, nachgewiesen. Wir konnten bei Typus bovinus und humanus der Tuberkelbazillen das Ferment nachweisen, aber von einem Stamm des Typhus humanus, der in Bouillon gezüchtet wurde, war das Resultat negativ. Weitere Untersuchungen müßten feststellen, ob es an der Verschiedenheit der Stämme liegt, oder von den Nährböden abhängt, worauf die Bakterien gezüchtet werden.

Das fettspaltende Ferment von *Staphylococcus albus* muß, wie die oben erwähnten Experimente zeigen, thermostabil sein.

Der positive Ausfall des Versuchs mit erhitzten Kokken hat nichts zu tun mit der Adsorption des Tributyrins durch diese Kokken, weil der Versuch mit Oktylalkohol keine Adsorption gezeigt hat.

Die Bakterien, an denen das fettspaltende Ferment nicht nachgewiesen wurde, sind *B. subtilis*, Diphtheriebazillen, Pneumokokken und Bakterien der Coligruppe, d. h. Typhus, Paratyphus A- und Paratyphus B-Bazillen, Dysenteriebazillen (Flexner, Y, Shiga-Kruse) und *B. coli commune*.

Die Bestimmung des p_H -Optimums.

Diese Versuche wurden mit dem oben beschriebenen saprophytischen Stäbchen ausgeführt, weil es von den lipasehaltigen Bakterien am leichtesten in großen Mengen zu züchten war. Die Versuche wurden mit der Hälfte der früheren Bakterienaufschwemmung ausgeführt. Sämtliche Versuche gingen zwei Stunden im Brutschrank, die Diagramme geben also den erreichten Grad der Fettspaltung nach gleichen Zeiten.

Zur Herstellung der verschiedenen p_H wurden Phosphatgemische, Glykokollgemische, Zitrat-Natrongemische nach Sørensen verwendet, und zwar sämtliche Pufferlösungen mit 3,5 Volumina Wasser gegenüber der Sørensenschen Vorschrift verdünnt. Das p_H wurde nach der Indikatorenmethode ohne Puffer nach Michaelis in den fertig zusammengesetzten Röhrchen bestimmt.

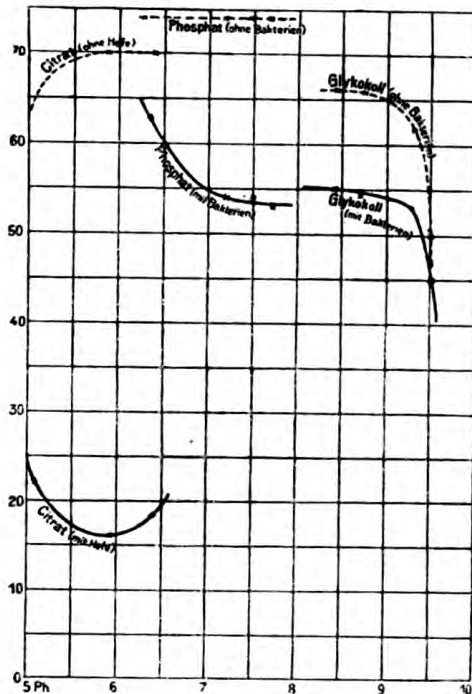
Die Resultate sind in den folgenden Tabellen und Diagrammen dargestellt, und es ergibt sich daraus folgendes:

Das p_H -Optimum ist ziemlich breit, etwa von 7,2 bis über 9. Wird p_H kleiner als 7,2, so wird die Wirkung überall entschieden geringer. Dagegen läßt sich die andere Seite nicht gut abgrenzen, weil nämlich bei einem p_H über 9 schon die Spaltung des Tributyrins durch die Hydroxylionen allein merklich wirkt. Durch Kontrollversuche haben wir diese für sich bestimmt und sie schätzungsweise von der Gesamtwirkung bei Gegenwart des Ferments in Abzug zu bringen versucht.

Gleiche Versuche mit Bierhefe haben ergeben, daß das p_H -Optimum hier auf der sauren Seite zwischen p_H 5,8 und 6,2 liegt.

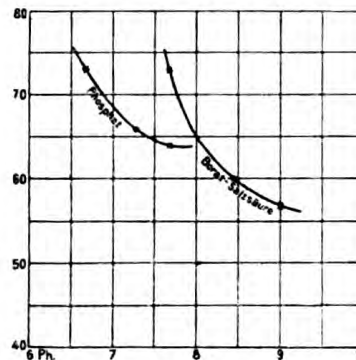
Im übrigen sieht man aus den Diagrammen, daß die Puffersubstanzen selbst einen zum Teil beträchtlichen Einfluß haben und es die H-Ionen nicht allein sind, die die Wirkung

des Ferments bestimmen. Man erkennt das daran, daß die mit den verschiedenen Puffern erhaltenen Kurven sich nicht zu einer einheitlichen Kurve zusammenfügen lassen. Besonders



Kurve 15.

Kurve 15. Die Abhängigkeit der Fermentwirkung vom pH; links Hefe, rechts Bakterien. Die Phosphat- und die Glykokollkurve fügen sich annähernd zusammen.



Kurve 16.

Kurve 16. Wie Kurve 15; die Phosphat- und die Boratkurve fügen sich nicht gut zusammen.

Der Versuch mit Phosphatgemisch.

| Tributyryn in verschiedenen pH-Lösungen | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Bakterienaufschwemmung | — | — | — | — | 2 ccm | 2 ccm | 2 ccm | 2 ccm |
| Aqua dest. | 2 ccm | 2 ccm | 2 ccm | 2 ccm | — | — | — | — |
| Tropfenzahl direkt nach Vermischen | 136,0 | 144,0 | 134,0 | 124,0 | 136,0 | 144,0 | 134,0 | 124,0 |
| Tropfenzahl nach 2 Std. | 134,0 | 142,0 | 132,0 | 124,0 | 125,0 | 134,0 | 124,0 | 120,0 |
| Vorhandenes Tributyrin nach Vermischen | 80 % | 79 % | 79 % | 74 % | 80 % | 79 % | 79 % | 79 % |
| do. do. nach 2 Std. | 74 „ | 74 „ | 74 „ | 74 „ | 53 „ | 54 „ | 54 „ | 63 „ |
| pH | 7,7 | 7,5 | 7,2 | 6,3 | 7,7 | 7,5 | 7,2 | 6,3 |
| Wasserwert der Pipette | 91,5 | 95,0 | 91,0 | 90,0 | 92,0 | 95,0 | 91,0 | 89,0 |

31*

Der Versuch mit Glykokoll und Natron.

| Tributyrin in verschiedenen p _H -Lösungen | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Bakterienaufschwemmung | — | — | — | — | 2 ccm | 2 ccm | 2 ccm | 2 ccm |
| Aqua dest. | 2 ccm | 2 ccm | 2 ccm | 2 ccm | — | — | — | — |
| Tropfenzahl direkt nach Vermischen | 136,0 | 133,0 | 149,5 | 133,0 | 135,0 | 136,0 | 148,0 | 131,0 |
| Tropfenzahl nach 2 Std. | 130,0 | 127,5 | 142,5 | 121,0 | 126,0 | 126,5 | 136,0 | 117,0 |
| Vorhandenes Tributyrin nach Vermischen | 78 % | 78 % | 78 % | 78 % | 78 % | 78 % | 78 % | 78 % |
| do. do. nach 2 Std. | 66 „ | 66 „ | 62 „ | 50 „ | 55 „ | 54 „ | 53 „ | 45 „ |
| p _H | 8,45 | 8,75 | 9,3 | 9,5 | 8,45 | 8,75 | 9,3 | 9,5 |
| Wasserwert der Pipette | 92,0 | 91,5 | 97,5 | 91,5 | 92,0 | 92,0 | 96,5 | 91,0 |

Der Versuch mit Citrat und Natron.

| Tributyrin in verschiedenen p _H -Lösungen | I | II | III | V | VI | VII |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Aufschwemmung von Hefe | — | — | — | 2 ccm | 2 ccm | 2 ccm |
| Aqua dest. | 2 ccm | 2 ccm | 2 ccm | — | — | — |
| Tropfenzahl direkt nach Vermischen | 131,0 | 142,0 | 124,0 | 131,0 | 142,0 | 124,0 |
| Tropfenzahl nach 2 Std. | 128,0 | 140,0 | 122,0 | 103,0 | 102,0 | 102,5 |
| Vorhandenes Tributyrin nach Vermischen | 78 % | 76 % | 73 % | 78 % | 76 % | 73 % |
| do. do. nach 2 Std. | 70 „ | 70 „ | 65 „ | 18 „ | 16 „ | 22 „ |
| p _H | 6,4 | 5,9 | 5,1 | 6,4 | 5,9 | 5,1 |
| Wasserwert der Pipette | 91,0 | 95,0 | 90,0 | 91,0 | 95,0 | 90,0 |

Zusammenfassung.

Die stalagmometrische Methode mit Tributyrin eignet sich zum Nachweis des fettspaltenden Ferments von Bakterien.

Fettspaltendes Ferment wird von pathogenen Keimen bei Eiterkokken und Tuberkelbazillen nachgewiesen, aber bei Coli-gruppe, Diphtheriebazillen und Pneumokokken nicht gefunden.

Das Wirkungsoptimum für ein gewisses saprophytisches Stäbchen liegt bei alkalischer Reaktion, dagegen das für eine Hefe bei saurer Reaktion.

Literatur.

- 1) H. Schulz, Pflügers Archiv f. Physiologie, Bd. 15, 1877.
- 2) Reinmann, Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., Bd. 6.
- 3) Laxa, Archiv f. Hyg., Bd. 41, 1894.
- 4) Rubner, Archiv f. Hyg., Bd. 41, 1894.
- 5) Schreiber, Archiv f. Hyg., Bd. 41, 1894.
- 6) Jensen, Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., Bd. 15, 1906.
- 7) O. Rahn, Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., Bd. 15, 1906.
- 8) R. Schenker, Biochem. Zeitschr., Bd. 120, 1921.
- 9) C. Escherich, Ueber die Darmbakterien des Säuglings, 1886.

- 10) E. v. Sommaruga, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 18, 1894.
- 11) C. Eijkman, Centralbl. f. Bakt., Bd. 29, 1901.
- 12) N. L. Söhngen, Academie to Amsterdam, Bd. 191, 1910.
- 13) G. Carrière, Compt. rend. de la soc. de biol., T. 53, 1901.
- 14) Rona und Michaelis, Biochem. Zeitschr., Bd. 31, 1911.
- 15) L. Michaelis, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 32, 1921.
- 16) Michaelis und Gyemant, Biochem. Zeitschr., Bd. 109, 1920.
- 17) L. Michaelis, Praktikum der physikalischen Chemie, 1921.
- 18) F. Fuhrmann, Vorlesungen über Bakterienenzyme, 1907.
- 19) Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 1913.
- 20) W. Kruse, Allgemeine Mikrobiologie, 1910.
- 21) C. Oppenheimer, Die Fermente, 1913.
- 22) A. J. Kendal, A. W. Walker, A. A. Day, Journal of the infect. disease, Vol. 15, 1914.

Nachdruck verboten.

[Aus der Thür. Landesanstalt für Viehversicherung, Veterinär-anstalt Jena (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. K. Hobstetter), Tierseuchenstelle (Leiter: Prof. Dr. W. Pfeiler).]

Die Differenzierung von Rauschbrand und rauschbrand-ähnlichen Bazillen durch einen komplizierten Tierversuch.

Von Dr. V. Goerttler.

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. September 1922.)

1. Begriff des Rauschbrandes.

Die Sicherheit in der Erkennung der anzeige- bzw. entschädigungs-pflichtigen Tierseuchen hat in den letzten 20 Jahren der ätiologischen Forschung bedeutend zugenommen. Der direkte Nachweis der Erreger kommt nur für einzelne Seuchen in Frage; für andere sind neue Wege gefunden worden. So kann die Rotzkrankheit auf serologischem Wege mit beinahe absoluter Sicherheit festgestellt werden. Für die Beschälseuche leisten die serologischen Methoden bei der im latenten Stadium der Krankheit oft schwierigen Diagnose wichtige Dienste. Die Präzipitationsmethode ist für die einwandfreie Feststellung des Milzbrandes besonders in Deutschland eingehend bearbeitet (1), die Diagnose der Wild- und Rinderseuche neuerdings auf eine sicherere Basis gestellt worden (2). In der vorliegenden Arbeit ist der Versuch unternommen worden, das gleiche für die Rauschbranddiagnose zu erreichen.

Unter „Rauschbrand“ werden vielfach ätiologisch ganz verschiedene Krankheitsformen verstanden.

Pathologisch-anatomisch stimmen diese Formen annähernd überein; sie sind durch ein Exsudat in der Muskulatur und unter der Subcutis gekennzeichnet, das mehr oder weniger hämorrhagischen Charakter trägt und von Gasblasen durchsetzt ist. In den serösen Körperhöhlen findet sich eine dem Subcutis- oder Muskelödem entsprechende Flüssigkeitsansammlung.

Wird die Diagnose „Rauschbrand“ lediglich auf Grund des Sektionsergebnisses gestellt, so liegt zwar in einer gewissen Anzahl von Fällen von vornherein eine gewisse Wahrscheinlichkeit dafür vor, daß es sich um eine durch den Rauschbrandbazillus im Sinne v. Hiblers (3, 4) oder Foths (5–7) hervorgerufene Infektion handelt; die Infektionen können aber ebensogut durch andere Erreger verursacht sein. Zu einer einwandfreien Diagnose ist die bakteriologische Bestimmung der Erreger also unbedingt notwendig [v. Hibler (3, 4), Foth (5–7), Kitt (3–11)]. Die Rauschbrandfrage kann mithin nicht gelöst werden, wenn nicht auch Klarheit über die Art und Klassifizierung der rauschbrandähnlichen Erkrankungen besteht.

In der humanmedizinischen Literatur ist bezüglich der Anaerobeninfektionen eine einigermaßen befriedigende Differenzierung durchgeführt. Baz. „Fränkel“, „Novy“, „Ghon-Sachs“, „Sporogenes Klein“, v. Hiblers „Arten“, „Arten des malignen Oedems“ — das sind einige der dort üblichen Definitionen (3, 4, 12).

Die Veterinärmedizin verzeichnet als Hauptbegriffe „Rauschbrand“ und „malignes Oedem“; was zwischen diesen beiden Typen in Betracht kommt, wird als „Pseudorausbrand“ geführt. Dieser Name ist aber nur ein Sammelbegriff für verschiedene Arten. Bei genauerer Prüfung ergibt sich zudem, daß ein Teil der „Rauschbrandtypen“ mit einzelnen Stämmen der unter „Pseudorausbrand“ zusammengefaßten Gruppe übereinstimmt.

Als Beispiel für die Verwirrung, die auf diesem Gebiete herrscht, sei das folgende drastische Beispiel angeführt: Köves (13) stellt die Identität des Bradsotbazillus mit den Bazillen vom Typus „Ghon-Sachs“ fest. Zeißler (12) stimmt ihm bei, kommt aber weitergehend zu dem Ergebnis, daß die Ghon-Sachsschen und die Kittschen Rauschbrandbazillen nicht voneinander verschieden sind. Nach ihm (12) muß „der zwischen dem bisherigen Rauschbrandbazillus und dem sogenannten Ghon-Sachsschen Bazillus gemachte Unterschied gekünstelt erscheinen, und können wir ihn deshalb nicht mehr aufrecht erhalten, sondern müssen nunmehr den sogenannten „Ghon-Sachs“-Bazillus mit unserem bisherigen Rauschbrandbazillus identifizieren . . .“ Er hält also die beiden pathologisch-anatomisch durchaus verschiedenen Krankheitsformen „Bradsot“ und „Rauschbrand“ für ätiologisch gleichartig.

Grosso (14) dagegen behauptet, „daß bei der sogenannten Bradsot der Schafe der Oedembazillus anwesend ist“; auch an anderer Stelle spricht

er von einer „Identität des Bradsotbazillus mit dem Bazillus oedematis maligni“.

Nach dem mathematischen Lehrsatz: „Wenn zwei Größen einer dritten gleich sind, so sind sie auch untereinander gleich“, könnte man also sagen: Rauschbrand- und Bradsotbazillus auf der einen und Bradsot- und Oedembazillus auf der anderen Seite sind miteinander identisch, also sind die Bazillen des Rauschbrandes und des malignen Oedems auch miteinander identisch. Das ist natürlich nicht richtig.

2. Uebersicht über die für die Diagnose des Rauschbrandes bzw. ähnlicher Erkrankungen gewiesenen Wege.

Für die Rauschbranddiagnose bzw. ihren Verdacht gibt der pathologisch-anatomische Befund, wie von v. Hibler (3, 4), Kitt (8—11), Foth (5—7) eingehend hervorgehoben haben, sowohl bei spontan erkrankten Tieren wie bei Impftieren nur Anhaltspunkte für die Diagnose.

Infektionen mit Rauschbrandbazillus verursachen nach v. Hibler (3, 4) und Foth (5—7) im allgemeinen ein schwarzrotes, mehr hämorrhagisches Oedem der Subcutis, während die Infektionen mit den Arten der Bazillen des malignen Oedems im allgemeinen ein seröses Subcutisödem erzeugen; daneben können in beiden Fällen bald stark, bald weniger stark ausgebreitete emphysematöse Zustände vorkommen.

Die mikroskopische Untersuchung der veränderten Muskulatur gibt niemals einen endgültigen Aufschluß über die Art der Erreger, da Rauschbrandbazillen und rauschbrand-ähnliche Mikroorganismen in der Muskulatur objektiv nicht voneinander zu unterscheiden sind (5—7).

Man findet grampositive Stäbchen von 2—6 μ Länge und etwa 0,5 μ Dicke, die einzeln oder zu zweien liegen. Oft sind Sporen vorhanden, Clostridienformen kommen häufig vor, auch Stäbchen oder Blähformen mit Granuloseinfiltration, die sich in diesem Falle rotbraun färben. Diese beiden Merkmale sind, wie v. Hibler (3, 4) festgestellt hat, am ausgeprägtesten bei Rauschbrandbazillen vorhanden. Foth (5—7) erkennt jedoch allen diesen morphologischen Eigenschaften nur einen bedingten Wert für die Diagnosestellung zu.

v. Hibler (3, 4), Foth (5—7), Kitt (8—11) halten dementsprechend zur genauen Diagnosestellung in jedem Falle den Kultur- und Tierversuch für unbedingt notwendig.

Getrocknete Gewebstückchen der veränderten Teile werden zerrieben. Aus dem Pulver wird mit physiologischer Kochsalzlösung eine Emulsion hergestellt, die nach v. Hiblers (3, 4) Angaben 5 Minuten lang im kochenden Wasserbade gehalten wird, um verunreinigende Mikroorganis-

men abzutöten; nur die hitzebeständigen Sporen sind nach dieser Erwärmung noch lebensfähig.

Um mit Sicherheit Reinkulturen zu erhalten, legt man aus einem mit der Emulsion infizierten Meerschweinchen, das sofort nach dem Tode zu sezieren ist, Hirnbreikulturen an.

Zeißler (12) suchte, wie erwähnt, die Diagnose in kultureller Hinsicht mittels der Traubenzuckerblutagarplatte herbeizuführen. Nach ihm (12) sollen auf diesem Nährboden fast alle Arten in verschieden gestalteten Kolonien wachsen; er stellte 6 Wuchsformen fest.

Nun bildet aber ein großer Teil der in Betracht kommenden Anaeroben nach Zeißler selbst (12) nicht nur „charakteristische“ Kolonien, sondern auch „nicht charakteristische, aber mögliche Formen“.

Diese Umstände machen eindeutige Bestimmungen oft unmöglich. An sehr großem Material kann vielleicht in dieser Richtung eine Klassifikation vorgenommen werden; im Einzelfall dagegen scheint eine Unterscheidung sehr schwierig zu sein, zumal das Aussehen der einzelnen Wuchsformen nicht sehr voneinander verschieden ist.

In dem Verhalten gegenüber Hirnbrei charakterisieren sich die Rauschbrandbazillen dadurch, daß sie diesen Nährboden nicht schwärzen. Ein Hirnbrei schwärzender Anaerobienstamm ist kein Rauschbrand (v. Hibler (3, 4), Kitt (8—11), Foth (5—7)). Dagegen ist nicht jeder Bazillenstamm, der Hirnbrei unverändert läßt, ein Rauschbrandstamm; die Bazillen vom Typus „Ghon-Sachs“ z. B. lassen Hirnbrei weiß, zählen aber nicht zum Rauschbrand im engeren Sinne (18).

Auch die morphologischen Eigenschaften der Bazillen in Kulturen haben für die Differenzierung nur einen bedingten Wert. Wie v. Hibler (3, 4) feststellte, tritt im Vergleich zu anderen Anaeroben die Neigung der Rauschbrandbazillen, in Kulturen Erythrogranulose zu bilden, außerordentlich hervor, so daß man diesen Umstand als Stützpunkt für die Differentialdiagnose verwerten kann. Foth (5—7) fand jedoch bei vielen anderen rauschbrandähnlichen Mikroorganismen ebenfalls Granulose in ungefähr der gleichen Menge.

Ebensowenig hat die Unterscheidung durch serologische Methoden, wie K. A. [Grosso (14)], Agglutination [Grosso (15)] und Präzipitation [Mießner und Lange (16)], Gerlach (17) zu einem befriedigenden Ergebnis geführt.

Der Sektionsbefund am verendeten Meerschweinchen ermöglicht keine sichere Diagnose. Lediglich Ausstriche von der Leberzwerchfellfläche oder den serösen Häuten lassen eine weitere Differenzierung zu (3—7). Nach v. Hibler (3, 4) und Foth (5—7) wachsen Rauschbrandbazillen an diesen

Stellen nie in Verbänden, was bei rauschbrandähnlichen Bazillen regelmäßig der Fall ist; im Gegensatz zum Verhalten auf der Leberzwerchfellfläche sind die letzteren jedoch in der Muskulatur ebenfalls verbandlos.

Foth (5) hält es für berechtigt, beim Fehlen von Verbandbildung auf den Serosen der Impftiere die Diagnose „Rauschbrand“ zu stellen, wenn gleichzeitig der übliche Sektions- und mikroskopische Befund gegeben ist. Allein ohne Prüfung der betreffenden Erreger in ihrem Verhalten Hirnbrei gegenüber müssen die gestellten Diagnosen Fehlresultate in sich schließen. So sind z. B. durch Bazillen von Hiblers „Art XI“ bedingte Infektionen auf Grund des mikroskopischen Bildes nicht von Rauschbrand zu unterscheiden. Erst die Hirnbreikultur gestattet die sichere Diagnose: Hiblers „Art XI“ schwärzt diesen Nährboden, während ihn Rauschbrandbazillen unverändert lassen.

Die Rauschbrandstämme, die Kitt (8) häufig aus Kadaverteilen von spontan erkrankten Rindern isolierte, wachsen in Fäden.

Ich zitiere hier Kitt (8): „Ich habe nun bei Meerschweinchen, welche mit solchem Virus geimpft waren, das Kaninchen und selbst Mäuse bei kräftiger subkutaner Infektion (1—2 ccm bzw. 0,5 ccm Fleischsaft und Kulturen) am Leben ließ, gleichwohl $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde nach dem Tode schon lange Scheinfäden in der Bauchhöhle, dem Milz- und Lungenblut angetroffen, während der Fleischsaft dieser Tiere lediglich die kurzen Stäbchen und Clostridien enthielt.“

Es ist augenscheinlich, daß Kitt einerseits sowie v. Hibler und Foth andererseits zwei verschiedene Anaërobenarten in den Händen gehabt haben und als „Rauschbrand“ bezeichnen. Foth (5—7) nennt nur solche Typen „Rauschbrandstämme“, die nie in Verbänden wachsen, während Kitt (8—11) auch Fadenbildner so nennt.

In dieser einheitlichen Bezeichnung ätiologisch verschiedener Erkrankungen dürfte einer der Hauptgründe für die Unsicherheit der Rauschbranddiagnose liegen. Zeißlers (12) Einteilung in Bazillus „Kitt“ und Bazillus „Foth“ erscheint daher durchaus berechtigt.

Es muß in Konsequenz dieser Erkenntnis in Zukunft genau umschrieben werden, was als Rauschbrand zu gelten hat und was von diesem Begriff wissenschaftlich und eventuell veterinärpolizeilich abzutrennen ist.

Diese Frage hat unter dem angeführten Gesichtspunkte eine große praktische Bedeutung. So wurde aus einem Rauschbranddistrikt an das

hiesige Institut des öfteren Material von unter rauschbrandverdächtigen Erscheinungen umgestandenen Rindern zur Untersuchung eingesandt. In keinem Falle wurden Bakterien ohne jede Verbandbildung auf den Serosen der Impftiere gefunden; in zwei Fällen („Kalbe“ und „Dermbach“) kamen Bakterien zur Isolierung, die lange verschlungene Fäden bildeten.

Stellt man sich auf den Standpunkt, nur verbandlose Bakterien als Rauschbrand zu bezeichnen, dann wäre keiner der angeführten Fälle Rauschbrand und mithin auch nicht entschädigungspflichtig gewesen. Eine derartige Auslegung hätte aber keinesfalls im Sinne des Gesetzgebers gelegen, besonders wenn, wie in diesem Bezirk, die Erkrankungen einen seuchenhaften Charakter tragen. So wurde, mit Ausnahme der Fälle „Kalbe“ und „Dermbach“, die Diagnose „Rauschbrand“ gestellt. Die weiter unten beschriebenen Versuche ergaben tatsächlich, daß es sich hier um eine vom Rauschbrand verschiedene Art gehandelt hatte.

3. Immunisierungsversuche.

Auf den bisher beschriebenen Wegen scheint eine Klarstellung des ganzen Gebietes nicht erreicht werden zu können. Es kommen zwar immer neue morphologische und kulturelle Eigenschaften der betreffenden Anaerobier zutage, aber statt zu klären, wirken die Mitteilungen hierüber noch verwirrender. Auch diese Lebewesen sind aber Typen mit ganz bestimmten Eigenschaften und Lebensäußerungen. Es ist nicht anzunehmen, daß sich vom Rauschbrand zum malignen Oedem eine Reihe untereinander kaum verschiedener Stämme hinzieht. Wir müssen einzelne sich voneinander abhebende Gruppen finden (18, 19).

Im folgenden ist der Versuch gemacht worden, die unten näher beschriebene, gleichsam durch die Bakterien selbst vorgenommene Trennung für die Diagnose des Rauschbrandes zu verwenden.

Ein gegen Rauschbrand immunisiertes Tier ist nur gegen Rauschbrand und nicht auch gegen eine Infektion mit Bazillen des malignen Oedems oder rauschbrandähnlichen Mikroorganismen immun. Bei Infektion einer Reihe mit einem bestimmten Stamm immunisierter Meerschweinchen durch andere Stämme müssen sich also gleiche oder doch eng verwandte Arten auch immunisatorisch gleich verhalten, d. h. das immunisierte Tier darf einer Infektion mit einem anderen Stamm der gleichen Art, durch die es immunisiert worden ist, nicht erliegen. Dagegen muß es sterben, wenn es mit Bakterien einer anderen Art infiziert wird.

Von den mir zur Verfügung stehenden Stämmen schwärzte ein Teil Hirnbrei (ich nenne sie „schwarz“, der andere Teil ließ ihn unverändert („weiß“).

Ich wollte prüfen, ob sich diese kulturell verschiedenen Stämme auch in immunisatorischer Hinsicht abweichend voneinander verhielten.

Eine Reihe Meerschweinchen mußte also gegen die Infektion mit „schwarzen“ Stämmen immunisiert werden, und eine zweite Serie gegen eine solche mit „weißen“ Stämmen. Zunächst war festzustellen, ob sich die „schwarz“ immunisierten Tiere auch gegen sämtliche „schwarzen“ Stämme refraktär verhielten, ebenso ob ein „weißer“ Stamm gegen alle anderen Stämme der gleichen „Farbe“ immunisierte. Hiernach waren die Tiere mit den gegenseitigen Kulturen zu spritzen. Dieser Infektion mußten sie erliegen. Durch Kontrollen war darzutun, daß die angewandte Infektionsdosis hoch genug war, um den Tod unbehandelter Tiere herbeizuführen.

Zur Immunisierung verwandte ich „Toxin“, d. h. keimfreie Filtrate von alten Leberbouillonkulturen. Eine Immunisierung mit Serum wäre zu unsicher (5, 12) und, wegen dessen Herstellung, auch zu umständlich und teuer gewesen. Aus dem gleichen Grunde kam auch die Immunisierung mit virulenten oder abgeschwächten Kulturen nicht in Frage, da hierbei Impfverluste zu befürchten waren. Für meine Zwecke erwies sich die von Nitta (20) ursprünglich angegebene und von Sobernheim und Gräub (21) aufgenommene Immunisierung mit Toxin am vorteilhaftesten. Sie ruft eine starke Immunität hervor, der Impfstoff ist im allgemeinen wenig giftig und leicht herzustellen.

Von meinen Stämmen legte ich aus gut gewachsenen Hirnbreikulturen solche in Leberbouillon an. Ich beimpfte 100 ccm fassende Erlenmeyerkölbchen, die ich, um reichliche Toxinbildung zu erzielen, etwa 14 Tage lang im Brutschrank stehen ließ. Die mikroskopische Prüfung ergab nach dieser Zeit neben einzeln liegenden Stäbchen und Detritus außerordentlich üppige Sporulation. Nun filtrierte ich diese Kulturen durch Zsigmondysche Membranfilter. Als ungeeignet erwiesen sich in den meisten Fällen Reichel- und Liliputkerzen; selbst nach dreimaliger Filtration waren bei deren Benutzung zuweilen noch Keime in der durchfiltrierten Flüssigkeit vorhanden. Bei Anwendung von engporigen Chamberlandkerzen erhielt ich zwar gute Resultate, aber die Flüssigkeit filtrierte im Gegensatz zum Zsigmondyfilter sehr langsam.

Aus dem Filtrat legte ich Hirnbrei- und Leberbouillonkulturen an, um die Keimfreiheit des Filtrats zu erweisen.

Das Filtrat (ich nenne es im folgenden stets „Toxin“) füllte ich in 5 ccm-Ampullen, die zugeschmolzen und im Kühlraum aufbewahrt wurden. Noch nach 3 Monaten war die immunisierende Fähigkeit des auf diese Weise aufbewahrten Toxins erhalten. (Diese Beobachtungen stehen im Gegensatz zu denen von Gräub und Zschokke (21), die nach kurzer Zeit eine Abnahme der immunisierenden Kräfte des Toxins, selbst in zugeschmolzenen Ampullen und auf Eis, feststellten.)

Die Giftigkeit des aus den einzelnen Stämmen gewonnenen Toxins war verschieden. Doch erwiesen sich Mengen von

ungefähr 2,5 ccm bei subkutaner Einverleibung in keinem Falle als tödlich für Meerschweinchen. Von einzelnen Toxinen konnte ich sogar 8—10 ccm in einem Akte injizieren, ohne daß der Tod des Tieres eintrat. Zur Immunisierung genügten aber stets 2,5 ccm.

Bei Tieren, die mit dieser Dosis vorbehandelt waren, konnte ich ohne Gefahr 0,2 ccm einer entsprechenden Kultur injizieren, von der 0,02 ccm bei unbehandelten Tieren sicher tödlich wirkten. Diese Tiere haben also mindestens die 10fach tödliche Dosis erhalten und der Infektion widerstanden.

Die niedrigste immunisierende Dosis habe ich bei meinen Toxinen ebensowenig festgestellt wie die niedrigste tödliche Dosis eines jeden Stammes. Mit Rücksicht auf den hohen Preis der Meerschweinchen mußte ich davon absehen. Die Pathogenität der einzelnen Stämme war durch Meerschweinchenpassagen sichergestellt worden. Die niedrigste immunisierende Toxineinheit konnte ich für meine Versuche unberücksichtigt lassen.

Ich injizierte jedem Tier etwa 2,5 ccm Toxin (kleinen etwas weniger, großen etwas mehr). Nach 10 Tagen spritzte ich mit 0,02—0,08 ccm (je nach der bei den Pathogenitätsprüfungen empirisch ermittelten Virulenz des betreffenden Stammes) einer gut gewachsenen, aus Hirnbrei angelegten 24stündigen Leberbouillonkultur; vor der jeweiligen Verwendung wurde die Kultur mikroskopisch auf Reinheit und Vorhandensein von Sporen geprüft. Die nach der ersten Injektion am Leben gebliebenen Tiere der homologen Reihe wurden am 4. Tage mit den Kulturen der anderen Farbe gespritzt, und zwar nur, wenn die Tiere vollkommen munter waren. Der Tod nach dieser 2. Injektion mußte also mit Rücksicht auf die dazwischen liegende Zeit und das Ausbleiben der Infektion bis zu diesem Zeitpunkt auf die letzte und nicht die erste Infektion bezogen werden.

Aus der Leberzwerchfellfläche der verendeten Tiere legte ich Leberbouillon- und Gehirnbreikulturen an. Aus der Impfstelle, Leberzwerchfellfläche, Bauchhöhle und einem der Organe wurden Ausstriche gemacht, die nach Gram gefärbt und mikroskopisch geprüft wurden. (Ich folgte einer von Pfeiler (21) angewandten und ursprünglich von Lingelsheim (22) angegebenen modifizierten Gramfärbung: 3 Minuten Karbolgentianviolett, $\frac{1}{2}$ Minute Lugolsche Lösung, Abtrocknen mit Fließpapier, Eintauchen in 3-proz. Acetonalkohol, Wasserspülung und Nachfärben mit 1:10 verdünntem Karbolfuchsin. Bei dieser Färbung erhielt ich sehr klare, kräftige und relativ gleichmäßig gefärbte Grambilder. Die Entfärbung im Acetonalkohol darf aber, wie besonders hervorgehoben sei, nicht zu lange ausgedehnt werden.)

Nach der ersten Infektion der immunisierten Tiere mit virulenten Kulturen ergab sich, daß im allgemeinen die Stämme

Tabelle I.
Immunisierungsversuch I.

| Meerschwein- chen No. | Immunisiert am | Mit Toxin vom Stamm No. | Zum 1. Mal infiziert am | Mit Kultur vom Stamm No. | Tod am | Zum 2. Mal infiziert am | Mit Kultur vom Stamm No. | Tod am | Befund | |
|--------------------------|-------------------|----------------------------------|----------------------------|--------------------------------------|-----------|----------------------------|--------------------------------------|-----------|-----------|--------------------|
| | | | | | | | | | kulturell | mikro- skopisch |
| 1 | 23. 9. | 4 ■ + | 3. 10. | 3 ■ ++ | 4. 10. | . | . | . | ■ | ++ |
| 2 | " | 4 ■ + | " | 4 ■ + | — | 7. 10. | 9 □ + | 8. 10. | □ | + |
| 3 | " | 4 ■ + | " | 5 ■ + | — | " | 12 □ — | " | □ | — |
| 4 | " | 4 ■ + | " | 6 ■ + | — | " | 13 □ — | " | □ | — |
| 5 | " | 4 ■ + | " | 7 ■ ++ | 4. 10. | . | . | . | ■ | ++ |
| 6 | " | 4 ■ + | " | 8 ■ ++ | " | . | . | . | ■ | ++ |
| 7 | " | 4 ■ + | " | 10 ■ + | — | 7. 10. | 14 □ + | 8. 10. | □ | + |
| 8 | " | 4 ■ + | " | 11 ■ + | — | " | 15 □ — | " | □ | — |
| 9 | " | 4 ■ + | " | 18 □ ++ | 4. 10. | . | . | . | □ | ++ |
| 10 | K. | . | " | 4 ■ + | " | . | . | . | ■ | + |
| 11 | 23. 9. | 15 □ — | " | 9 □ + | — | 7. 10. | 3 ■ ++ | 8. 10. | ■ | ++ |
| 12 | " | 15 □ — | " | 12 □ — | — | " | 4 ■ + | " | ■ | + |
| 13 | " | 15 □ — | " | 13 □ — | — | " | 5 ■ + | " | ■ | + |
| 14 | " | 15 □ — | " | 14 □ + | — | " | 6 ■ + | " | ■ | + |
| 15 | " | 15 □ — | " | 15 □ — | — | " | 7 ■ ++ | " | ■ | ++ |
| 16 | " | 15 □ — | " | 16 □ + | — | " | 8 ■ ++ | " | ■ | ++ |
| 17 | " | 15 □ — | " | 17 □ — | — | " | 10 ■ + | " | ■ | + |
| 18 | " | 15 □ — | " | 18 □ ++ | 4. 10. | . | . | . | □ | ++ |
| 19 | " | 15 □ — | " | 4 ■ + | " | . | . | . | ■ | + |
| 20 | K. | . | " | 15 □ — | " | . | . | . | □ | — |

Erläuterungen:

- = Hirnbrei bleibt unverändert („weißer“ Stamm).
 ■ = Hirnbrei wird geschwärzt („schwarzer“ Stamm).
 — = keine Verbandbildung auf den serösen Häuten.
 + = kurze Verbände auf den serösen Häuten.
 ++ = lange Fäden auf den serösen Häuten.
 K. = nicht immunisiertes Kontrolltier.

gleicher Farbe auch in immunisatorischer Hinsicht ein gleiches Verhalten zeigten. Von den mit „schwarzem“ Toxin immunisierten Tieren erwies sich die Mehrzahl als immun, das gleiche war bei den weißen Stämmen der Fall. Von den Meerschweinchen 1–10 (siehe Tabelle I) starben, außer dem Kontrolltiere, No. 1, 5, 6 und 9. (Der weiße Stamm 18 war erst kurz vorher aus zur Untersuchung eingesandtem Material isoliert, und es war mir noch nicht bekannt, ob er Hirnbrei schwärzen würde; er wurde aus diesem Grunde bei beiden Versuchsreihen angewandt.)

In Ausstrichen von der Leberzwerchfellfläche der genannten Tiere ließ sich in jedem Fall (außer den Kontrolltieren) neben Einzelstäbchen

reichliche Fadenbildung der Bakterien feststellen. In den anderen Organen und an der Impfstelle waren nur Einzelstäbchen vorhanden.

Bei den weißen Stämmen erlag außer dem Kontrolltier nur das Meerschweinchen No. 18 der Infektion mit der Kultur 18. Der mikroskopische Befund beim Meerschweinchen 18 entsprach dem vorher geschilderten.

Es schien also, als ob sich die fadenbildenden Bakterien anders als die verbandlosen Stämme ihrer „Farbe“ verhielten.

Bei der zweiten Kulturinjektion spritzte ich die am Leben gebliebenen Tiere mit den Kulturen der Gegenseite. Sämtliche Tiere starben, ich fand bei ihnen keine langen Fäden auf den Serosen, sondern nur kurze Verbände.

Mit anderem Toxin und teilweise anderen Stämmen wurde der Versuch nochmals wiederholt (siehe Tabelle II).

Tabelle II.
Immunisierungsversuch II.

| Meerschweinchen No. | Immunisiert am | Mit Toxin vom Stamm No. | Zum 1. Mal infiziert am | Mit Kultur vom Stamm No. | Tod am | Zum 2. Mal infiziert am | Mit Kultur vom Stamm No. | Tod am | Befund | |
|---------------------|----------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|--------|-------------------------|--------------------------|--------|-----------|---------------|
| | | | | | | | | | kulturell | mikroskopisch |
| 1 | 22. 12. | 5 ■ + | 31. 12. | 3 ■ ++ | 1. 1. | . | . | . | ■ | ++ |
| 2 | " | 5 ■ + | " | 4 ■ + | — | 3. 1. | 18 □ ++ | 4. 1. | □ | ++ |
| 3 | " | 5 ■ + | " | 5 ■ + | — | " | 19 □ ++ | " | □ | ++ |
| 4 | " | 5 ■ + | " | 6 ■ + | — | " | 20 □ + | " | □ | + |
| 5 | " | 5 ■ + | " | 7 ■ ++ | 1. 1. | . | . | . | ■ | ++ |
| 6 | " | 5 ■ + | " | 8 ■ ++ | — | . | . | . | ■ | ++ |
| 7 | " | 5 ■ + | " | 10 ■ + | — | 3. 1. | 22 □ + | 4. 1. | □ | + |
| 8 | " | 5 ■ + | " | 11 ■ + | — | " | 23 □ — | " | □ | — |
| 9 | " | 5 ■ + | " | 21 ■ + | — | " | 24 □ + | " | □ | + |
| 10 | " | 5 ■ + | " | 4 ■ + | — | " | 25 □ + | " | □ | + |
| 11 | " | 5 ■ + | " | 5 ■ + | — | " | 26 □ + | " | □ | + |
| 12 | " | 5 ■ + | " | 6 ■ + | — | " | 27 □ — | " | □ | — |
| 13 | " | 5 ■ + | " | 10 ■ + | — | " | 28 □ — | " | □ | — |
| 14 | " | 5 ■ + | " | 11 ■ + | — | " | 29 □ — | " | □ | — |
| 15 | " | 5 ■ + | " | 21 ■ + | — | " | 30 □ + | " | □ | + |
| 16 | " | 9 □ + | " | 18 □ ++ | 1. 1. | . | . | . | □ | ++ |
| 17 | " | 9 □ + | " | 19 □ ++ | — | " | . | . | □ | ++ |
| 18 | " | 9 □ + | " | 20 □ + | — | 3. 1. | 3 ■ ++ | 4. 1. | ■ | ++ |
| 19 | " | 9 □ + | " | 22 □ + | — | " | 4 ■ + | " | ■ | + |
| 20 | " | 9 □ + | " | 23 □ — | — | " | 5 ■ + | " | ■ | + |
| 21 | " | 9 □ + | " | 24 □ + | — | " | 6 ■ + | " | ■ | + |
| 22 | " | 9 □ + | " | 25 □ + | — | " | 7 ■ ++ | " | ■ | ++ |
| 23 | " | 9 □ + | " | 26 □ + | — | " | 8 ■ ++ | " | ■ | ++ |
| 24 | " | 9 □ + | " | 27 □ — | — | " | 10 ■ + | " | ■ | + |
| 25 | " | 9 □ + | " | 28 □ — | — | " | 11 ■ + | " | ■ | + |
| 26 | " | 9 □ + | " | 29 □ — | — | " | 21 ■ + | " | ■ | + |
| 27 | " | 9 □ + | " | 30 □ + | — | " | 21 ■ + | " | ■ | + |

Er brachte kein vom ersten abweichendes Ergebnis. Die mit Toxin vorbehandelten Tiere waren gegen die Injektion von Kulturen der gleichen Farbe immun. Nur die Tiere starben, denen Kulturen von Bakterien mit langer Fadenbildung aus den Serosen einverleibt waren, da das Toxin aus Stämmen mit kurzer Verbandbildung gewonnen war (Tabelle II, No. 1, 5, 6, 16, 17). Nach Infektion mit Kulturen der anderen Farbe starben alle Tiere.

Es blieb nun noch zu prüfen, ob sich die fadenbildenden Stämme verschiedener Farbe immunisatorisch gleich verhielten (Tabelle III).

Tabelle III.
Immunisierungsversuch III.

| Meerschwein- chen No. | Immunisiert am | Mit Toxin vom Stamm No. | Zum 1. Mal infiziert am | Mit Kultur vom Stamm No. | Tod am | Zum 2. Mal infiziert am | Mit Kultur vom Stamm No. | Tod am | Befund | |
|--------------------------|-------------------|----------------------------------|----------------------------|--------------------------------------|-----------|----------------------------|--------------------------------------|-----------|-----------|--------------------|
| | | | | | | | | | kulturell | mikro- skopisch |
| 1 | 23. 12. | 3 ■ ++ | 1. 1. | 7 ■ ++ | — | 4. 1. | 18 □ ++ | 5. 1. | □ | ++ |
| 2 | " | 3 ■ ++ | " | 8 ■ ++ | — | " | 19 □ ++ | " | □ | ++ |
| 3 | " | 18 □ ++ | " | 18 □ ++ | — | " | 3 ■ ++ | " | ■ | ++ |
| 4 | " | 18 □ ++ | " | 19 □ ++ | — | " | 7 ■ ++ | " | ■ | ++ |
| 5 | " | 18 □ ++ | " | 19 □ ++ | — | " | 8 ■ ++ | " | ■ | ++ |

Das Ergebnis der Versuche ist zusammengefaßt folgendes:

In keinem Falle trat durch Vorbehandlung mit „schwarzem“ Toxin eine Immunität gegen eine Infektion mit „weißen“ Kulturen ein, und umgekehrt; dagegen immunisierte das Toxin gegen eine solche mit Stämmen gleicher Farbe, sofern es sich nicht um hinsichtlich der Verband- und Fadenbildung auf den Serosen sehr voneinander abweichende Stämme handelte. Die Stämme mit langer Fadenbildung wichen von denen mit kurzen Verbänden und ohne Verbandbildung auf den Serosen in ihrem Verhalten immunisierten Tieren gegenüber durchaus ab, selbst wenn die betreffenden Stämme Hirnbrei gleichartig beeinflussten. Ein Unterschied in immunisatorischer Hinsicht war dagegen zwischen weißen Stämmen ohne alle Verbandbildung auf den Serosen und mit kurzen Verbänden nicht festzustellen.

Den antigenen Eigenschaften der Bakterien, die sich in dem angegebenen komplizierten Tierversuch zeigen, ist für

die Einteilung der Rauschbrand- und rauschbrandähnlichen Mikroorganismen ebendieselbe oder eine noch größere Bedeutung zuzuerkennen, wie ihren morphologischen und kulturellen Merkmalen. Teilweise ist es sogar nur durch den komplizierten Tierversuch möglich, schnell und sicher die Diagnose zu stellen. Bei den von mir benutzten Stämmen waren nach ihrem mikroskopischen Verhalten im Tierkörper und hinsichtlich der Beeinflussung von Hirnbrei 5 Gruppen zu unterscheiden:

- 1) Hirnbrei bleibt unverändert, ohne Verbände auf den Serosen der Impftiere (□ —).
- 2) Hirnbrei bleibt unverändert, mit kurzen Verbänden auf den Serosen der Impftiere (□ +).
- 3) Hirnbrei bleibt unverändert, mit langen Fäden auf den Serosen der Impftiere (□ ++).
- 4) Hirnbrei wird geschwärzt, mit kurzen Verbänden auf den Serosen der Impftiere (■ +).
- 5) Hirnbrei wird geschwärzt, mit langen Fäden auf den Serosen der Impftiere (■ ++), (18).

Die Gruppen 1 und 2 umfassen nach Zeißlers (12) Einteilung die Rauschbrandarten im engeren Sinne. Die Stämme der ersten Gruppe sind die klassischen Rauschbrandbazillen im Sinne v. Hiblers (3, 4) und Foths. Die Rauschbrandbazillen, die Kitt (8—11) beschrieb, gehören in die Gruppe 2. Zeißler (12) bezeichnet die Vertreter dieser beiden Arten als „Baz. Foth“ und „Baz. Kitt“. Diese stimmen in ihrem immunisatorischen Verhalten überein. Zeißlers (12) Zusammenfassung der beiden Typen in eine Gruppe: „Rauschbrand im engeren Sinne“ besteht also zu Recht. Außerdem faßt Zeißler (12) noch die Gruppe 3 mit den beiden ersten zusammen, weil diese 3 Gruppen auf der Traubenzuckerblutagarplatte in gleichartigen Kolonien wachsen. Die 3. Gruppe muß aber, wie aus meinen Versuchen hervorgeht, abgetrennt werden; Mikroorganismen dieser Art sind weiterhin als Bazillen vom „Typus Ghon-Sachs“ zu bezeichnen.

Eine Unterscheidung der Gruppen 2 und 3 ist mit Sicherheit nur durch den komplizierten Tierversuch möglich. Wohl sind die Leberzwerchfellverbände der Kittschen Bazillen im allgemeinen kürzer als die oft verschlungenen Fäden der Ghon-Sachsschen Bazillen, aber eine Unterscheidung auf Grund dieses Befundes ist mehr oder weniger subjektiv und kann nicht mit Bestimmtheit getroffen werden. Noch weniger können die übrigen morphologischen und kulturellen Unterscheidungsmerkmale in entscheidendem Maße zur Differenzierung herangezogen werden. Aus dem gleichen Grunde ist auch eine Trennung der Gruppen 4 und 5 (■ + und ■ ++) auf bakteriologischem Wege unmöglich. Die Verbandbildung von Stämmen der Gruppe 4, die Hiblers Beschreibung seiner „Art XI“ entspricht, und derjenigen von Stämmen der Gruppe 5, die den „Bazillen des malignen Oedems Robert Kochs nahesteht“, kann

unter Umständen nur unwesentlich voneinander abweichen (v. Hibler, 3). Mittels des komplizierten Tierversuchs mit immunisierten Meerschweinchen ist dagegen eine Unterscheidung leicht möglich.

Zur Untersuchung auf Rauschbrand in Instituten [in der bakteriologischen Abteilung der Tierseuchenstelle zu Jena wird die Untersuchung von Rauschbrandmaterial seit langem praktisch in der angegebenen Weise ausgeführt (17, 18)] wird es sich empfehlen, stets ein oder nach Bedarf mehrere Paare immunisierter Meerschweinchen vorrätig zu halten. Das eine Tier wird mit Toxin von Stämmen der Gruppen 1 und 2 immunisiert, während das andere mit aus Kulturen der Arten 3, 4 und 5 hergestelltem Toxin vorbehandelt wird. Das zweite Tier ist also mit polyvalentem Toxin rauschbrandähnlicher Stämme immunisiert.

Beide Tiere werden mit dem zu untersuchenden Material infiziert. Stirbt das mit polyvalentem Toxin immunisierte Tier, dann liegt, vorausgesetzt, daß eine der beschriebenen 5 Typen die Infektion verursacht hat, Rauschbrand vor. Das gegen Rauschbrand immunisierte Tier bleibt in diesem Falle am Leben. Umgekehrt stirbt das mit „echtem“ Rauschbrandtoxin immunisierte Tier, wenn die Infektion mit einem der 3 anderen Stämme erfolgte, gegen die das mit polyvalentem Toxin vorbehandelte Meerschweinchen immun ist.

Bezüglich der Hirnbreischwärzung kann die Diagnose auf die hier beschriebene Weise schneller gestellt werden als im Kulturversuch. Die Veränderung von Hirnbrei kann unter Umständen nach v. Hibler (3, 4) und eigenen Beobachtungen ziemlich lange dauern. Da stets nur ein Tier stirbt, ist der Verbrauch an Impftieren beim komplizierten Tierversuch nicht größer als bei einem einfachen Infektionsversuch.

Soweit sich die noch nicht abgeschlossenen Versuche übersehen lassen, sind die Meerschweinchen 4—6 Wochen immun; nach dieser Zeit wird man vorläufig gut tun, die Tiere neu zu immunisieren.

4. Zusammenstellung der Eigenschaften der von mir benutzten Stämme.

An dieser Stelle möchte ich nicht verfehlen, den Herren Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Foth, Prof. Dr. Kitt, Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Olt, Prof. Dr. Pfeiler, Prof. Dr. Poels, Prof. Dr. Sobernheim für die mir lebenswürdigerweise überlassenen Rauschbrandreinkulturen bzw.

Rauschbrandmaterial meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Den genannten Herren habe ich den größten Teil meiner Stämme zu verdanken; nur durch ihr Entgegenkommen war es mir möglich, meine Arbeit auf breiterer Grundlage durchzuführen. Ein kleiner Teil der Stämme wurde von mir aus der Sammlung der Tierseuchenstelle Jena entnommen bzw. aus zur Untersuchung eingesandtem Material isoliert. Die Herkunft der Stämme wurde jeweils bei ihrer Aufzählung angegeben.

Bei der Einteilung und Nomenklatur folgte ich v. Hiblers (3, 4) und teilweise Zeißlers (12) Angaben.

Tabelle IV.
Verzeichnis der Stämme.

| No. der Art | Bezeichnung der Art | No. des Stammes | Bezeichnung des Stammes | Verhalten auf Hirnbrei | Verläufe auf den Serosen | Hitzeresistenz der Sporen | Häufigstes Sektionsbild | Im komplizierten Tierversuch verschieden von |
|-------------|--|-----------------|-------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|--|
| Ia | Rauschbrand „Foth“ | 12 | „Foth 3“ | □ | — | 10' | I | II, III, IV |
| | | 13 | „Foth 4“ | | | | | |
| | | 15 | „Foth 6“ | | | | | |
| | | 17 | „Passage Foth 6“ | | | | | |
| | | 23 | „Jost“ | | | | | |
| | | 27 | „Oberwühl“ | | | | | |
| | | 28 | „Sohl 1“ | | | | | |
| Ib | Rauschbrand „Kitt“ | 29 | „Gießen“ | □ | + | 10' | I | II, III, IV |
| | | 9 | „Emphysarcol F.“ | | | | | |
| | | 14 | „Foth 5“ | | | | | |
| | | 16 | „Unterbreizbach“ | | | | | |
| | | 20 | „Stadttilm“ | | | | | |
| | | 22 | „Ilanz“ | | | | | |
| | | 24 | „Stamm Par.“ | | | | | |
| II | Typus „Ghon-Sachs“ | 25 | „Rauschbrand 6“ | □ | ++ | 5' | II | I, III, IV |
| | | 26 | „Bludenz“ | | | | | |
| | | 30 | „Kitt“ | | | | | |
| | | 18 | „Dermbach“ | | | | | |
| | | 19 | „Kalbe“ | | | | | |
| | | 4 | „Rotterdam“ | | | | | |
| | | 5 | „Berlin“ | | | | | |
| III | v. Hiblers „Art XI“ | 6 | „Wien“ | ■ | + | 30' | I | I, II, IV |
| | | 10 | „Foth 1“ | | | | | |
| | | 12 | „Foth 2“ | | | | | |
| | | 21 | „Coburg“ | | | | | |
| | | 3 | „1915“ | | | | | |
| | | 7 | „1913“ | | | | | |
| | | 8 | „244“ | | | | | |
| IV | „Dem malignen Oedem Kochs nahesteh. Art“ | | | ■ | ++ | 30' | II | I, II, III |
| | | | | | | | | |

Erläuterungen:

Sektionsbild I = im allgemeinen hämorrhagisches Oedem, viel Gasblasen.

„ II = im allgemeinen seröses Oedem, wenig Gasblasen.

Allen meinen Stämmen sind die folgenden Eigenschaften gemeinsam: sie sind grampositiv bis gramlabil, sporenbildend,

zeigen Clostridienformen und Granuloseinfiltration, sie sind obligat anaërob, verflüssigen Gelatine und rufen Gerinnung der Milch hervor; außerdem sind sie sämtlich pathogen.

1. Rauschbrandarten.

a) Rauschbrandbazillus „Foth“ (□—), (Zeißler, 12).

1) Keine Verbandbildung auf den Serosen und in der Muskulatur der Impftiere; die Stäbchen liegen höchstens zu zweien.

2) Hirnbrei bleibt unverändert.

3) Die pathologisch-anatomischen Veränderungen bestehen in einem vorwiegend hämorrhagischen Oedem; Gasblasen sind stets, zuweilen außerordentlich reichlich vorhanden. Die Muskulatur an der Impfstelle ist oft morsch und schwarzrot.

4) Die Sporen halten etwa 10 Minuten lang Siedehitze aus.

5) Die Stämme sind immunisatorisch verschieden von den Arten 2 (□++) „Ghon-Sachs“, 3 (■+) „Hiblers Art XI“ und 4 (■++) „Kochs Bazillen des malignen Oedems nahestehenden Arten“ nicht verschieden von 1b (□+) „Rauschbrandbazillus „Kitt“.

Die oben angeführten Merkmale hatten 8 Stämme:

| | | | | |
|-------|----|---------------|-----------------------|-----------------|
| Stamm | 12 | „Foth 3“, | Geh. Reg.-Rat | Prof. Dr. Foth. |
| „ | 13 | „Foth 4“, | „ | „ |
| „ | 15 | „Foth 6“, | „ | „ |
| „ | 17 | Passagekultur | von Stamm | 15. |
| „ | 23 | „Jost“, | Prof. Dr. Sobernheim. | |
| „ | 27 | „Oberwihl“, | Prof. Dr. Sobernheim. | |
| „ | 28 | „Sohl 1“, | Prof. Dr. Sobernheim. | |
| „ | 29 | „Gießen“, | Geh. Med.-Rat | Prof. Dr. Olt. |

b) Rauschbrandbazillus „Kitt“ (□+), (Zeißler, 12).

1) Kurze Verbandbildung auf den Serosen der Impftiere, keine Verbände in deren Muskulatur. [Die genaue Zahl der Glieder läßt sich nach Kitt (8) nicht angeben. Bei Verbänden von 8—10 Teilstücken etwa weisen immer einige Glieder Zerfallerscheinungen auf; diese halten den Farbstoff nicht und erscheinen unscharf konturiert. Man darf annehmen, daß, wenn diese Glieder vollständig zerfallen, der Verband sich in kleinere Teilstücke auflöst.]

2) Hirnbrei bleibt unverändert.

3) Die pathologisch-anatomischen Veränderungen gleichen denen beim Baz. „Foth“.

4) Sporen halten etwa 10 Minuten lang Siedehitze aus.

5) Die Stämme dieser Art sind in immunisatorischer Hinsicht verschieden von den Arten 2 (□++) „Ghon-Sachs“, 3 (■+) „Hiblers Art XI“ und 4 (■++) „Kochs Baz. des malignen Oedems nahestehenden Arten“; nicht verschieden von 1a (□—) Rauschbrandbazillus „Foth“.

Diese Eigenschaften zeichneten 9 Stämme aus:

| | | |
|-------|----|--|
| Stamm | 9 | „Emphysarcol F“, Geh. Reg.-Rat Dr. Foth. |
| „ | 14 | „Foth 5“, Geh. Reg.-Rat Dr. Foth. |
| „ | 16 | „Unterbreizbach“, von mir isoliert. |
| „ | 20 | „Stadtilm“, von mir isoliert. |
| „ | 22 | „Ilanz“, Prof. Dr. Sobernheim. |
| „ | 24 | „Stamm Par“, Prof. Dr. Sobernheim. |
| „ | 25 | „Rauschbrand 6“, Prof. Dr. Sobernheim. |
| „ | 26 | „Bludenz“, Prof. Dr. Sobernheim. |
| „ | 30 | „Kitt“, Prof. Dr. Kitt. |

2. Bazillen vom Typus „Ghon-Sachs“ (□++), (v. Hibler, 3).

1) Lange, oft verschlungene Fäden auf den Serosen der Impftiere. (Die mikroskopische Unterscheidung von den „Verbänden“ des Baz. „Kitt“ ist oft unmöglich. Im allgemeinen sind bei den Bazillen vom Typus „Ghon-Sachs“ die Fäden länger.) Keine Fäden in der Muskulatur.

2) Hirnbrei wird nicht verändert.

3) Bezüglich der pathologisch-anatomischen Veränderungen ist festzustellen, daß das Oedem in der Regel mehr seröser Natur ist und daß die Gasbildung gegenüber jenem oft stark zurücktritt.

4) Hitzeresistenz der Sporen etwa 5 Minuten.

5) Die Stämme dieser Art verhalten sich immunisatorisch abweichend von den Arten 1a (■—) Rauschbrandbazillus „Foth“, 1b (□—) Rauschbrandbazillus „Kitt“, 3 (■+) „v. Hiblers Art XI“ und 4 (■++), „den Bazillen des malignen Oedems Robert Kochs nahestehenden Arten“.

Ich besaß 2 Stämme von diesem Typus:

| | | |
|-------|----|-------------------------------|
| Stamm | 18 | „Dermbach“, von mir isoliert. |
| „ | 19 | „Kalbe“, von mir isoliert. |

3. „v. Hiblers Art XI“ (■+), (v. Hibler, 3).

1) Kurze Verbände auf den Impftierserosen, keine Verbände in der Muskulatur.

2) Hirnbrei wird geschwärzt.

3) Bei der Sektion der mit den Stämmen dieser Art infizierten Tiere findet sich ein serös-hämorrhagisches Oedem; Gasblasen sind stets vorhanden, einige Male sogar förmliche „Gashöhlen“.

4) Die Sporen sind gegen Siedehitze außerordentlich widerstandsfähig; sie sind stets nach $\frac{1}{2}$ -stündiger Siedehitze noch lebensfähig.

5) Im komplizierten Tierversuch ist diese Art zu trennen von den Arten 1a (□—) Rauschbrandbazillus „Foth“, 1b (□+) Rauschbrandbazillus „Kitt“, 2 (□++) „Ghon-Sachs“ und 4 (■++) „den Bazillen des malignen Oedems Robert Kochs nahestehenden Arten“.

6 Stämme der von mir untersuchten Kulturen besaßen diese Eigenschaften:

| | | |
|-------|----|---|
| Stamm | 4 | „Rotterdam“, Prof. Dr. Poels. |
| „ | 5 | „Berlin“, Prof. Dr. Pfeiler. |
| „ | 6 | „Wien“, „ „ „ |
| „ | 10 | „Foth 1“, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Foth. |
| „ | 11 | „Foth 2“, „ „ „ „ „ |
| „ | 21 | „Coburg“, von mir isoliert. |

4. „den Bazillen des malignen Oedems Robert Kochs nahestehende Arten“ (■++), (v. Hibler, 3).

1) Lange Fäden auf den Impftierserosen, jedoch nicht in der Muskulatur.

2) Hirnbrei wird geschwärzt.

3) Am Kadaver sind die pathologisch-anatomischen Veränderungen vorwiegend seröser Natur, ohne ausgesprochen blutige Färbung der Flüssigkeit; Gasblasen fehlen oft.

4) Sporen überdauern einstündige Siedehitze.

5) Immunisatorisch verhalten sich die Stämme dieser Art verschieden von den Arten 1a (□—) Rauschbrandbaz. „Foth“, 1b (□+) Rauschbrandbazillus „Kitt“, 2 (□++) Typ „Ghon-Sachs“ und 3 (■+) „v. Hiblers Art XI“.

3 Stämme dieser Art, die früher sämtlich als Rauschbrand geführt waren, habe ich geprüft.

Stamm 3 „1915“, Sammlung der Tierseuchenstelle.

| | | | | | |
|---|---|---------|---|---|---|
| „ | 7 | „1913“, | „ | „ | „ |
| „ | 8 | „244“, | „ | „ | „ |

Zusammenfassung.

1) Unter Rauschbrand werden vielfach ätiologisch ganz verschiedene Krankheitsformen verstanden.

2) Für die Diagnose des Rauschbrandes und zur Differenzierung von Rauschbrand- und rauschbrandähnlichen Erkrankungen geben der pathologisch-anatomische Befund, die mikroskopische Prüfung der veränderten Muskulatur und die serologischen Methoden nur Anhaltspunkte.

3) In jedem Falle ist zur genauen Diagnosestellung der Kultur- und Tierversuch unbedingt notwendig.

4) Den antigenen Eigenschaften der Rauschbrand- und rauschbrandähnlichen Bakterien, wie sie sich im komplizierten Tierversuch (Immunisierung von Meerschweinchen mit Toxinen verschiedener Stämme und wechselseitigen Infektionen mit Reinkulturen derselben) zeigen, ist für ihre Einteilung eben dieselbe oder eine noch größere Bedeutung zuzuerkennen, wie ihren morphologischen und kulturellen Merkmalen.

4) Es zeigten sich als immunisatorisch verschieden 4 Gruppen:

- I. a) Hirnbrei bleibt unverändert, ohne Verbände auf den Serosen der Impftiere (□ −), Typ „Foth“.
- b) Hirnbrei bleibt unverändert, mit kurzen Verbänden auf den Serosen der Impftiere (□ +), Typ „Kitt“.
- II. Hirnbrei bleibt unverändert, mit langen Fäden auf den Serosen der Impftiere (□ ++), Typ „Ghon-Sachs“.
- III. Hirnbrei wird geschwärzt, mit kurzen Verbänden auf den Serosen der Impftiere (■ +), „Hiblers Art XI“.
- IV. Hirnbrei wird geschwärzt, mit langen Fäden auf den Serosen der Impftiere (■ ++), „dem malignen Oedem Kochs nahestehende Art“.

Literaturverzeichnis.

- 1) Schütz-Pfeiler, Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilkunde, Bd. 38, 1911, S. 207.
- 2) Pfeiler-Kohlstock, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 22, 1921, Heft 4.
- 3) v. Hibler, Kolle-Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 4. Jena, Gust. Fischer, 1912.
- 4) — Untersuchungen über die path. Anaëroben. Jena, G. Fischer, 1908.
- 5) Foth, Zeitschr. f. Infektionskrankh. der Haustiere, Bd. 6, 1908, Heft 3 u. 4.
- 6) — Ebenda, Bd. 8, 1910, Heft 2.
- 7) — Ebenda, Bd. 10, 1911, Heft 1.
- 8) Kitt, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 1, 1887, No. 23.
- 9) — Monatshefte f. prakt. Tierheilkunde, Bd. 7, 1896.
- 10) — Ebenda, Bd. 12, 1902.
- 11) — Münch. tierärztl. Wochenschr., Jahrg. 68, 1918, Heft 40—42.
- 12) Zeißler, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 21, 1920, Heft 1.
- 13) Köves, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 80, 1918, Heft 1—3.
- 14) Grosso, Ebenda, Bd. 70, 1913, Heft 3 u. 4.
- 15) — Berlin. tierärztl. Wochenschr., Bd. 27, 1911, No. 35.
- 16) Mießner und Lange, Deutsche tierärztliche Wochenschr., Bd. 22, 1914, Heft 42.
- 17) Gerlach, F., Zeitschr. f. Infektionskrankh. der Haustiere, Bd. 22, 1921, S. 299.
- 18) Pfeiler-Goerttler, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 88, 1922, Heft 6.
- 19) — — Archiv f. wissensch. u. prakt. Tierheilk., Bd. 48, 1922, Heft 2.
- 20) Naoshi-Nitta, Bull. of the Central Veterinary Medical-Association, Tokyo 1918, No. 1.
- 21) Gräub u. Zschokke, Schweiz. Archiv f. Tierheilk., 1920, Heft 2 u. 3.
- 22) Pfeiler, Zeitschr. f. Infektionskrankh. der Haustiere, Bd. 8, 1910, S. 155.
- 23) v. Lingelsheim, Kolle-Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 5. Jena, G. Fischer, 1912.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten, Bern
(Direktor: Prof. Dr. G. Sobernheim).]

**Ueber das Wiederauftreten latent gewordener Agglutinine
nach parenteraler Einverleibung von Deuteroalbumose
oder Natrium nucleinicum.**

Von **M. Jaggi.**

Mit 9 Figuren im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. September 1922.)

Die Art und Weise, wie nach Ablauf einer Erstinfektion späterhin, unter der Einwirkung einer gleichartigen oder andersartigen Neuinfektion, die alten latent gewordenen Antikörper wieder in Erscheinung treten, ist in dem hiesigen Institut unlängst von Tsukahara an den Agglutininen eingehend geprüft worden. Schon vorher lag zu dieser Frage eine größere Reihe von Veröffentlichungen vor, deren wichtigste sich in der eben genannten Arbeit zitiert finden. Die Tatsache, daß der immunisierte Organismus imstande ist, auch auf einen unspezifischen Reiz hin die aus seinem Blut verschwundenen spezifischen Antikörper wieder neu zu produzieren, ist hiernach allgemein anerkannt und bestätigt, und hierin allein liegt schon ein für die Erklärung der Immunitätsvorgänge sehr bedeutsames Phänomen. Hingegen lauten die Angaben durchaus widersprechend über die Schnelligkeit und Intensität des Neuauftretens schlummernder Antikörper.

Speziell für die Agglutinine sollte nach den Versuchsergebnissen, wie sie namentlich Bieling erhalten hat, die „anamnestische“ Kurve sich grundsätzlich von einer primären Agglutinincurve unterscheiden. Tsukahara hat bei seinen Experimenten diese Angaben nicht bestätigt gefunden. Er ging in der Weise vor, daß er Kaninchen mit lebenden oder abgetöteten Bakterien vorbehandelte, dann die Tiere längere Zeit beobachtete, bis der Titer der Agglutinine abgesunken war, und sie nunmehr mit der gleichen oder aber einer anderen Bak-

terienart nachbehandelte. Bei der Nachbehandlung mit anderen Bakterienarten wurde sowohl auf die spezifischen Agglutinine, also die dem Antigen der Nachbehandlung entsprechenden, als auch ganz besonders auf die unspezifischen, dem Antigen der Vorbehandlung entsprechenden geachtet. Im Gegensatz zu Bieling konnte Tsukahara keinen nennenswerten Unterschied zwischen der primären und der sekundären Agglutinin-kurve feststellen. Die Entwicklung der alten, durch unspezifischen Reiz neu erweckten Agglutinine erfolgte nach zeitlichem Verlauf und Charakter im wesentlichen ganz so wie die Agglutininbildung bei einem erstmalig behandelten Tier. Allerdings waren die Resultate bei dieser Versuchsanordnung, wo durch eine andersartige Reinfektion die abgesunkenen Agglutinine wieder zum Steigen gebracht werden sollten, in quantitativer Hinsicht relativ schwach. Absichtlich wurden in den meisten Versuchen die gleich geringen Bakterienmengen wie für die erste Injektion benutzt, um einen etwa vorhandenen Unterschied in der Reaktionsweise des Tieres möglichst deutlich zutage treten zu lassen, und nur in einzelnen Fällen wurden für die Reinjektion große Dosen verwendet. Die stärkere Reaktion der größeren Dosen schien auch für die Agglutinin-kurve etwas stärkere Ausschläge zu geben, ohne daß freilich der Charakter der Kurve als solcher wesentliche Änderungen erkennen ließ. Immerhin waren Andeutungen dafür vorhanden, daß die Stärke der Reaktion eine Rolle spielen könnte, und es erschien wünschenswert, in weiteren Versuchen den unspezifischen Reiz der Nachbehandlung möglichst kräftig zu gestalten, um auch Allgemeinsymptome, namentlich Temperatursteigerung, in stärkerem Maße hervorzurufen.

Ich habe es daher unternommen, die Versuche in dieser Richtung fortzusetzen, und zugleich das Vorgehen dahin abgeändert, daß als unspezifischer Reiz zur Nachbehandlung keine fremdartigen Bakterien, sondern Proteinkörper nicht-bakterieller Natur verwendet wurden. Ich gebrauchte dazu Deuteroalbumose (Merck) und Natrium nucle-
inicum. Diese Substanzen sind nicht so toxisch wie die abgetöteten Bakterien, so daß relativ größere Mengen gegeben werden dürfen, und ihre Wirkung auf die abgesunkenen Anti-

körper ist bekannt durch die Arbeiten von Fleckseder, Ruß und Kirschner, Seiffert, Weichardt und Schrader u. a. Die Fragestellung war für mich also: Wie wirkt auf den Agglutiningehalt des Serums gesunder Tiere, nachdem bei ihnen ein durch Vorbehandlung mit abgetöteten Bakterien erzeugter Titer abgesunken ist, die einmalige parenterale Einspritzung von Deuteroalbumose oder Natrium nucleinicum?

Ich verwendete als Versuchstiere Kaninchen und Meerschweinchen. Meine Versuchsanordnung war für die ersteren die folgende:

Zuerst wurden die im Normalserum vorhandenen Agglutinine festgestellt, und zwar gegen Typhusbazillen, Paratyphusbazillen, *B. enteritidis* Gärtner, Ruhrbazillen (Typ. Shiga und Y), Choleravibrionen, *Vibr. Metschnikoff*, *Proteus* X 19. Die Agglutinationstechnik war die übliche. Nach 2stündigem Verweilen der Röhrchen im Brutschrank wurde bei elektrischem Licht mit der Lupe abgelesen, dann ca. 22 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und nach dieser Zeit nochmals abgelesen. Der Unterschied zwischen den Resultaten der ersten Ablesung und denen der zweiten war aber meist nur unerheblich.

Nachdem so die Normalagglutinine jedes Kaninchens ermittelt waren, wurden die Tiere vorbehandelt mit intravenöser Injektion von Bakterienaufschwemmungen, die durch 1stündiges Erhitzen auf 60° im Wasserbad abgetötet worden waren. Die Prüfung verteilte sich auf 4 Versuchsreihen. Die Tiere der ersten Versuchsreihe erhielten je $\frac{1}{10}$ Oese Typhusbazillen, die der zweiten je $\frac{1}{10}$ Oese Cholerabakterien, die der dritten je $\frac{1}{10}$ Oese Y-Ruhrbazillen (Stamm „Bern“), die der vierten endlich je $\frac{1}{10}$ Oese *Vibr. Metschnikoff*. Eine Woche nach der Injektion wurden bei allen Tieren die Agglutinine von neuem bestimmt, und zwar nicht nur gegen die zur Vorbehandlung benutzte Bakterienart, sondern wiederum auch gegen alle anderen vorgenannten Stämme. Einige Kaninchen hatten nur schwach Agglutinine gebildet und wurden daher mit etwas höheren Dosen nachgespritzt (bis 1 Oese). Bei diesen nachgespritzten Tieren wurde eine Woche nach der zweiten Injektion nochmals eine Bestimmung des Titors vorgenommen. Nachdem so bei allen Kaninchen ein ausreichender Agglutinintiter (1 : 400 bis 1 : 3200) erzeugt worden war, wartete ich zunächst 1—3 Monate, um den Titer sinken zu lassen. Dieses Absinken verfolgte ich durch

etwa alle 3 Wochen vorgenommene Agglutininbestimmungen. Es wäre natürlich wünschenswert gewesen, den Titer wieder bis auf seinen Ausgangspunkt sinken zu lassen; es zeigte sich aber, daß das nicht ganz erreicht werden konnte. Abgesehen davon, daß eine Anzahl von Tieren während der langen Wartezeit leider an interkurrenten Erkrankungen einging, vollzog sich die Abnahme der Agglutinine nur äußerst langsam. Ich ging daher so vor, daß, wenn nach längerer Zeit bei einem Tier der Titer ziemlich stark abgesunken und 3 Wochen oder noch länger stationär geblieben war, ich die Nachbehandlung mit der unspezifischen Proteinsubstanz vornahm. Ein weiteres Absinken wäre unter diesen Umständen innerhalb absehbarer Zeit erfahrungsgemäß nicht zu erwarten gewesen.

Einige Tage vor der Nachbehandlung wurde in jedem Fall mit der Aufnahme einer Temperaturkurve begonnen, was durch täglich zur gleichen Zeit vorgenommene rektale Messungen geschah. Ferner wurde unmittelbar vor der Injektion nochmals der genaue Stand aller Agglutinine festgestellt. Dann erhielt etwa die Hälfte der Tiere jeder Versuchsreihe intravenös Deuteroalbumose Merck (0,05—0,08), die andere Hälfte Natrium nucleinicum Siegfried (0,05—0,15). Beide Substanzen lösen sich gut in 0,85proz. NaCl-Lösung. Bevor sie eingespritzt wurden, wurden sie auf ihre Sterilität geprüft durch Impfung eines Bouillonröhrchens mit einigen Tropfen ihrer Lösung; es kam nie zu Bakterienwachstum. Nach der Injektion wurden jeden Tag Haupt- und Nebenagglutinine genau bestimmt (am ersten Tag 2mal, nämlich nach 2 und nach 6 Stunden) und gleichzeitig die Temperatur gemessen, beides immer zu gleichen Tageszeiten. Auf diese Weise verfolgte ich während etwa 14 Tagen die durch die Proteinkörper bewirkte Titer- und Temperaturschwankung. Der Einwand, daß Titterschwankungen als Folge der täglichen Blutentnahmen zustande kommen könnten, dürfte keine Berechtigung haben, da, wie aus den Untersuchungen von Friedberger und Dorner, Hahn und Langer, Landau, Klinger, Hahn und Neu, Olsen, Langer, Trommsdorff u. a. hervorgeht, zur Beeinflussung des Titers, wenn eine solche überhaupt eintritt, viel größere Blutentziehungen nötig sind, als ich sie ausführte. Gleichzeitig mit den vor-

behandelten Kaninchen wurden auch unbehandelte mit den gleichen Dosen der Proteinkörper gespritzt, um den Einfluß der letzteren auf die Normalagglutinine feststellen zu können.

Bei Meerschweinchen wurde im Prinzip gleich verfahren wie bei Kaninchen, nur daß bei ihnen Vor- und Nachbehandlung intraperitoneal geschahen. Auch hier wurde je eine Versuchsreihe für Typhus, eine für Cholera, eine für Y-Ruhr („Bern“), eine für *Vibrio Metschnikoff* angelegt. Bei den Meerschweinchen prüfte ich das Serum nur auf das Hauptagglutinin, damit den Tieren immer nur eine kleine Blutprobe entnommen zu werden brauchte. Normalagglutinine fehlten bei allen Meerschweinchen. Der durch die ein- oder, wenn nötig, zweimalige intraperitoneale Einspritzung von abgetöteten Bakterien ($\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{2}$ Oese) erzeugte Agglutinititer war zwar nicht besonders hoch (1:100 bis 1:400; ein einziges Tier ging bis 1:1600), sank aber dafür im Verlauf von $4\frac{1}{2}$ Monaten bei den meisten Tieren wieder bis unter 1:25. Nach der Nachbehandlung (0,1 Deuteroalbumose oder Natrium nucleicum, intraperitoneal) wurde wie bei den Kaninchen täglich der Stand der Agglutinine festgestellt und die Temperatur gemessen. Daneben wurden bei einigen Tieren noch Entnahmen von Peritonealexsudat gemacht, in etwa 2tägigen Abständen, zwecks Prüfung auf Agglutinationskraft. Auch bei den Meerschweinchen prüfte ich den Einfluß der Proteinsubstanzen auf normale Tiere.

Ich gehe nun zur Besprechung der Versuchsergebnisse über. Ich beschränke mich darauf, von meinen in Kurvenform gebrachten Protokollen nur eine kleine Zahl als Beispiele wiederzugeben, die den charakteristischen Verlauf der Agglutininbildung erkennen lassen. Auch verzichte ich auf die Wiedergabe der Temperaturkurven, die sich im Prinzip fast durchweg gleichen. Sie zeigen einen mehr oder weniger starken Anstieg am 1. und bisweilen noch am 2. Tage, gewöhnlich auf 39—40°, dann ein Wiederabsinken auf die Norm, worauf die Temperatur nun entweder weiterhin normal blieb oder höchstens eine leichte, an der Grenze des Normalen sich haltende Steigerung erkennen ließ. Bei Meerschweinchen hielt der Temperaturanstieg meist etwas länger an (2—4 Tage). In Fig. 6 ist eine Temperaturkurve mit eingetragen.

Im ganzen habe ich an 13 Kaninchen und an 12 Meerschweinchen verwertbare Resultate erhalten. Eine weitere Zahl von Tieren ist während der Versuchsdauer an interkurrenten Krankheiten eingegangen.

A. Kaninchenversuche.

1. Versuchsreihe.

Die Kaninchen dieser Reihe wurden mit Typhus vorbehandelt. Zur Nachbehandlung diente bei Tier I und II je 0,08 Deuteroalbumose, bei Tier III 0,15 Natrium nucleicum. Ueber die dadurch erzielten Titerveränderungen geben Fig. 1—3 Auskunft.

Bei Fig. 1 und 3 zeigt sich am 1. Tage nach der Injektion ein leichtes Absinken des Titors; dann folgt der Anstieg, der sich etwa vom 2. bis zum 5. Tage allmählich vollzieht und den Höchstwert, der durch die erste Typhusinjektion

Fig. 1¹⁾. Kaninchen I, 2500 g.

Vorbehandlung: Typhus; 30. III. 21 $\frac{1}{10}$ Oese abgetötet iv.
Nachbehandlung: Deuteroalbumose; 8. VII. 21 0,08 iv.



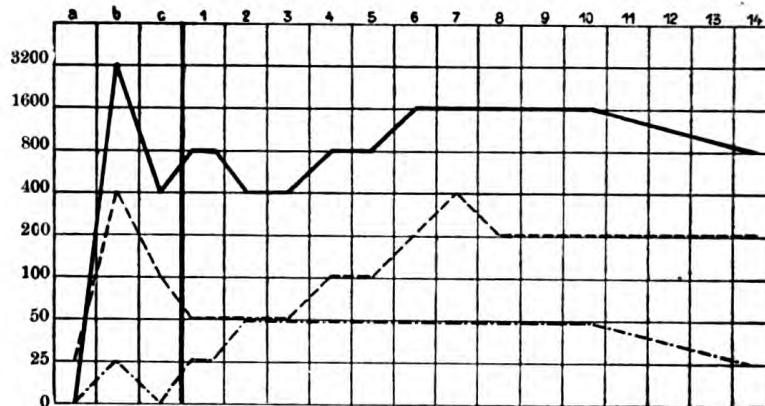
— Typhus, ---- Gärtner, -.-.- Ruhr Y (Frankfurt). Weitere Nebenagglutinine bei 1:25 für Paratyphus B, Ruhr Shiga und Y Bern. Uebrigte Bakterienarten unbeeinflusst.

1) In den Kurven bedeutet a den Stand der Agglutinine vor der Behandlung, b den Gipfel der durch die Vorbehandlung erzielten Agglutininproduktion, c den Stand der im Verlauf von 1—3 Monaten abgesunkenen Agglutinine am Tage vor der Proteinkörperinjektion. Die Zahlen 1, 2, 3 usw. geben dann die Tage nach der Injektion der Proteinkörper an; der Teil a—c der Kurven ist also zeitlich viel länger als der folgende Teil.

erzielt worden war, wieder erreicht (1:3200). Die Titer-senkung, die zunächst in fast unmittelbarem Anschluß an die Reinjektion sich einstellte, trat auch bei einigen anderen Tieren in Erscheinung. Sie wurde von Meyer und Löhr ebenfalls nach der Einspritzung von Nukleinsäure beobachtet.

Fig. 2. Kaninchen II, 2750 g.

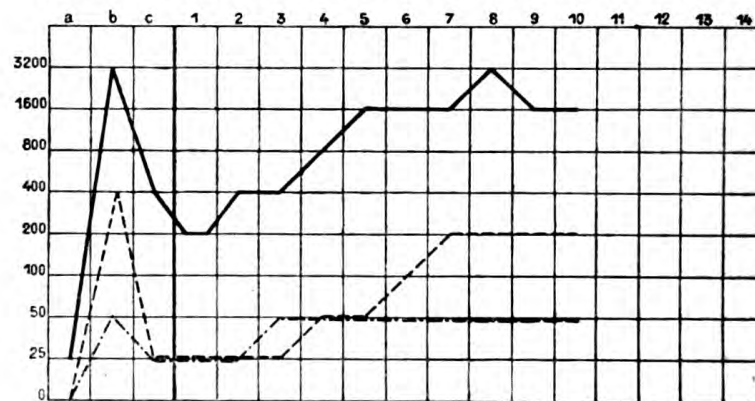
Vorbehandlung: Typhus; 30. III. 21 $\frac{1}{10}$ Oese abgetötet iv.
Nachbehandlung: Deuteroalbumose; 6. VII. 21 0,08 iv.



— Typhus, ---- Gärtner, Ruhr Y (Frankfurt). Weitere Nebenagglutinine bei 1:25 für Paratyphus B, Ruhr Shiga und Y Bern. Uebrige Bakterienarten unbeeinflusst.

Fig. 3. Kaninchen III, 2500 g.

Vorbehandlung: Typhus; 30. III. 21 $\frac{1}{10}$ Oese abgetötet iv.
Nachbehandlung: Natrium nucleinicum; 6. VII. 21 0,15 iv.



— Typhus, ---- Gärtner, Ruhr Y (Frankfurt). Weitere Nebenagglutinine bei 1:25 für Paratyphus B und Ruhr (Shiga). Uebrige Bakterienarten unbeeinflusst.

Demgegenüber fehlt bei Kaninchen II (Fig. 2) dieses Absinken, statt dessen macht sich hier gerade umgekehrt eine schwache Steigerung am 1. Tag bemerkbar, die am 2. Tag wieder verschwindet und dann den definitiven Anstieg der Kurve vom 4. bis zum 6. Tag eintreten läßt. Der ursprüngliche Höchstititer (1:3200) wird nicht wieder ganz erreicht, die Kurve zeigt sonst aber fast den gleichen Verlauf, wie die der beiden anderen Tiere (I und III). Offenbar hängt das vorübergehende Absinken oder Ansteigen des Agglutinintiters am 1. Tage von individuellen Zufälligkeiten ab, denn Kaninchen I und II waren völlig gleich behandelt worden und verhielten sich dennoch in diesem Punkt verschieden.

Es läßt sich also, wie aus dieser ersten Versuchsreihe hervorgeht, durch Einspritzung der erwähnten Proteinkörper ein Wiederaufstieg der abgesunkenen Agglutinine erzielen, aber die sekundäre Kurve unterscheidet sich kaum von einer primären, ein besonders charakteristisches Verhalten der anamnestic Kurve ist nicht zu konstatieren.

Was die Mitagglutination anderer Bakterienarten anbelangt, so kamen nur der *B. enteritidis* Gärtner und ein Y-Ruhrstamm (Frankfurt) in Betracht. Insbesondere der Gärtnerbazillus wurde deutlich mitagglutiniert, und es verdient hervorgehoben zu werden, daß sowohl die primäre als auch die sekundäre Kurve in ihrem Verlauf sich ganz dem der entsprechenden Typhuskurven anschlossen. Andere Bakterienarten (*Paratyphus* B, Ruhr Typ. Shiga und Y (Bern), Cholera, *Proteus* X 19, *Vibrio* Metschnikoff) blieben ganz oder fast ganz unbeeinflusst.

Die Temperaturkurven dieser 3 Tiere zeigten das typische Verhalten: Eine steile Zacke am 1. und ev. noch 2. Tag, von da an keine deutliche Beeinflussung mehr wahrnehmbar.

2. Versuchsreihe.

Die sekundären Kurven der Choleraagglutinine zeigten prinzipiell die gleichen Verhältnisse wie die entsprechenden Kurven der Typhusagglutinine in der vorigen Versuchsreihe, also zunächst ein leichtes Absinken oder Stabil-

bleiben des Titors, dann vom 2. und 3. Tag an einen Anstieg wie bei einer primären Kurve. Namentlich bei dem mit Deuteroalbumose nachgespritzten Kaninchen ließ sich der Verlauf der Kurve deutlich erkennen; der Gipfel wurde hier in allmählichem Anstieg am 6. Tage erreicht. Ein anderes Tier, nachgespritzt mit Natr. nucleinicum, reagierte überhaupt nur schwach; der auf 1:50 abgesunkene Titer ging nach der Reinjektion nicht höher als auf 1:100. Bei keinem Tier war eine Mitagglutination anderer Bakterienarten zu konstatieren.

Auch hier zeigten die Temperaturkurven das gewöhnliche Bild. Insbesondere ergab sich, daß ein Zusammenhang zwischen dem Verhalten der Temperatur und der Agglutininbildung nicht besteht; beide Kurven verlaufen selbständig und unabhängig voneinander, irgendwelche Beziehungen sind nicht erkennbar.

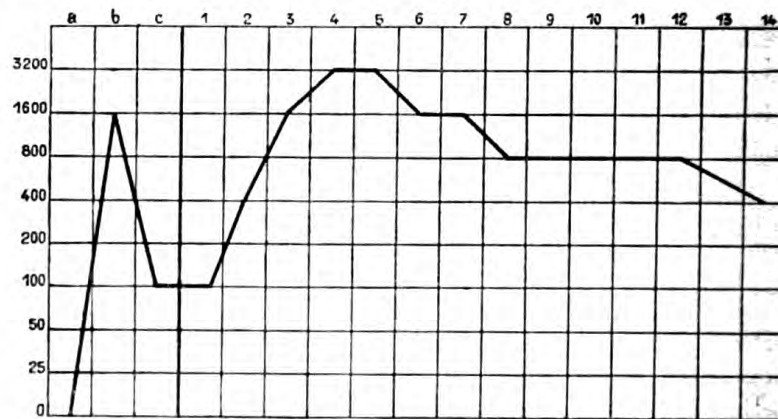
3. Versuchsreihe.

Ein Blick auf die Kurven der mit Y-Ruhr („Bern“) vorbehandelten Tiere (Fig. 4—6) zeigt, daß hier der Verlauf doch anders ist, als bei den bisher besprochenen Versuchen. Der Anstieg der anamnestic Kurve erfolgt wesentlich steiler und setzt schon am 2. Tage nach der Reinjektion ein.

Fig. 4. Kaninchen VII, 2100 g.

Vorbehandlung: Ruhr Y (Bern); 13. IV. 21 $\frac{1}{10}$ und 23. IV. 21 1 Oese abgetötet iv.

Nachbehandlung: Deuteroalbumose; 8. VII. 21 0,06 iv.



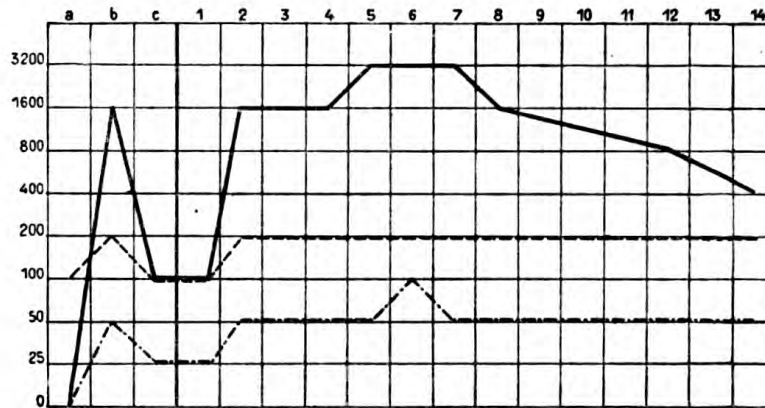
— Ruhr Y (Bern). Alle anderen Bakterienarten unbeeinflusst.

Besonders deutlich ist dies bei Fig. 5, wo die sekundäre Kurve bereits am 2. Tage nahezu die Höhe erreicht und innerhalb von 24 Stunden von 1:100 auf 1:1600 ansteigt, also ein rasches Wiederemporschnellen des abgesunkenen Agglutinin-

Fig. 5. Kaninchen VIII, 2200 g.

Vorbehandlung: Ruhr Y (Bern); 13. IV. 21 $\frac{1}{10}$ und 23. IV. 21 1 Oese abgetötet iv.

Nachbehandlung: Deuteroalbumose; 8. VIII. 21 0,06 iv.

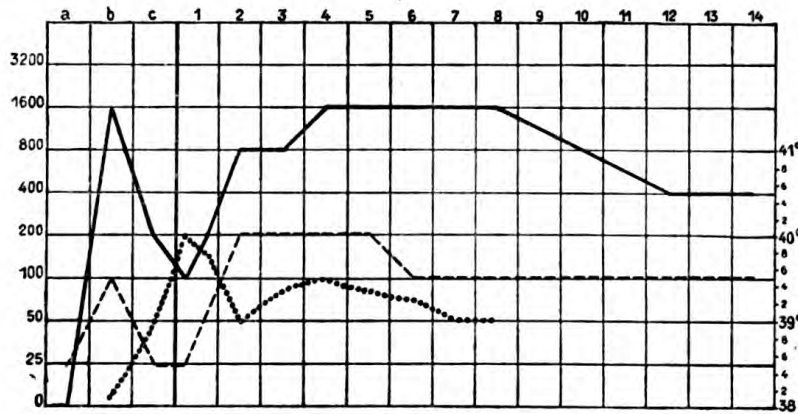


— Ruhr Y (Bern), ---- Typhus, Ruhr Y (Frankfurt). Weitere Nebenagglutinine bei 1:25 für alle anderen Bakterienarten mit Ausnahme von Ruhr (Shiga) und Cholera.

Fig. 6. Kaninchen IX, 2000 g.

Vorbehandlung: Ruhr Y (Bern); 1. VI. 21 $\frac{1}{10}$ Oese abgetötet iv.

Nachbehandlung: Natrium nucleinicum; 8. VII. 21 0,1 iv.



— Ruhr Y (Bern), ---- Typhus, Temperatur. Weitere Nebenagglutinine: Paratyphus B 25, Gärtner 50, Ruhr (Shiga) 25, Ruhr Y (Frankfurt) 50, Cholera 50, Proteus X 19 25, nur Vibrio Metschnikoff unbeeinflusst.

titers. Aber auch bei Fig. 4 und 6 ist, mit oder ohne Absinken des Titors am 1. Tage, schon am darauffolgenden Tage eine erhebliche Vermehrung der Agglutinine zu konstatieren, und der Gipfel der ziemlich steil ansteigenden Kurve wird am 4. Tage erreicht. Hier verläuft also die Neubildung der Agglutinine entschieden schneller als in den früheren Versuchsreihen und schneller, als man es bei primären Agglutinincurven beobachtet. Die Erklärung könnte darin liegen, daß vielleicht speziell bei Ruhr die Agglutinine rascher gebildet werden; die Resultate von Tsukahara u. a. sprechen allerdings nicht dafür, daß den Ruhrbazillen und Ruhrantikörpern diese Sonderstellung zukommt. Hervorgehoben sei, daß bei meinen Versuchen die Agglutination der Ruhrbazillen nicht so stark und grobflockig war, wie z. B. die von Typhusbazillen, immerhin blieb sie auch in stärkeren Verdünnungen deutlich erkennbar. Wir kommen auf die Frage noch einmal zurück.

Bemerkenswert ist, daß die Reinjektion von Deuteroalbumose und von Natrium nucleicum etwa die gleiche Wirkung ausübte. Ferner fällt auf, daß bei Kan. VIII (Fig. 5) Typhusbazillen ziemlich stark mitagglutiniert werden, weniger deutlich bei Kan. IX (Fig. 6), und gar nicht bei Kan. VII (Fig. 4). Es spielen da offenbar doch individuelle Einflüsse der Versuchstiere stark mit. Eine Mitagglutination der anderen Bakterienarten trat entweder gar nicht ein oder innerhalb enger Grenzen (1:25, höchstens 1:50). Eigentümlicherweise wurde auch ein anderer Ruhrstamm (Y Frankfurt) nur sehr wenig beeinflusst.

Die Temperaturkurven der 3 Tiere zeigten das gleiche und typische Verhalten. Eine dieser Kurven (nach Natr. nucl.) ist in Fig. 6 mit eingezeichnet. Sie läßt erkennen: Hoher Anstieg am 1. Tage, Abfall am 2. Tage, dann leichte Erhebung vom 3.—6. Tage; also zuerst ein der Agglutininbildung entgegengesetztes Verhalten, später ein vorübergehender Parallelismus, jedenfalls keine klar ausgeprägten Beziehungen.

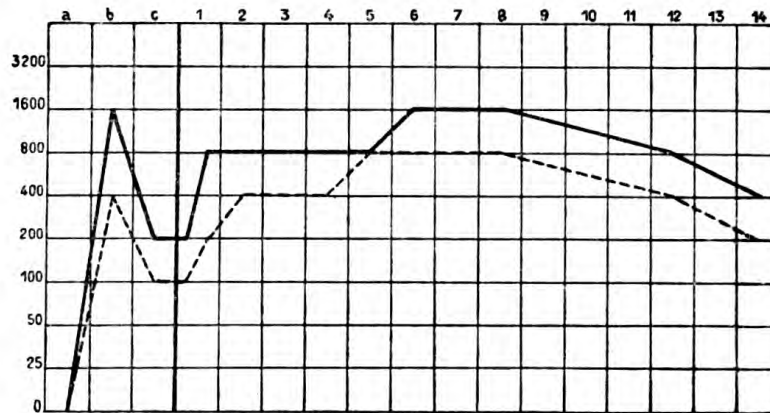
4. Versuchsreihe.

Von den Agglutinincurven der 2 Tiere, die mit *Vibrio* Metschnikoff vorbehandelt waren, zeigte die eine, und

zwar bei dem mit Natrium nucleinicum nachbehandelten Kaninchen, nur einen schwachen Anstieg am 3. Tage und bot keinerlei Besonderheiten. Dagegen verläuft die Kurve des mit Deuteroalbumose nachbehandelten Tieres (Fig. 7) in zwei Absätzen. Schon am 1. Tage geht die Kurve von 1:200 auf 1:800 in die Höhe, hält sich bis zum 5. Tage gleichmäßig und zeigt dann einen weiteren Anstieg bis auf 1:1600.

Fig. 7. Kaninchen XIV, 2100 g.

Vorbehandlung: *Vibrio Metschnikoff*; 1. VI. 21 $\frac{1}{10}$ Oese abgetötet iv.
Nachbehandlung: Deuteroalbumose; 8. VII. 21 0,06 iv.



— *Vibrio Metschnikoff*, ---- *Proteus X 19*. Weitere Nebengglutinine bei 1:25 für Typhus, Gärtner, Ruhr Y (Frankfurt und Bern). Uebrigere Bakterienarten unbeeinflusst.

Hier liegt also entschieden eine eigene Art anamnestischer Kurve vor, mit einem von einer primären Kurve abweichenden Verlauf. Zugleich sehen wir ein Beispiel, daß Natr. nucl. und Deuteroalbumose eine verschiedene Wirkung ausüben, doch kann der Unterschied natürlich auch durch Eigenschaften der Versuchstiere bedingt sein.

Auffällig war bei beiden Tieren auch die deutliche, z. T. sehr starke Mittagglutination von *Proteus X 19*, als einziger von allen geprüften Bakterienarten.

Kontrollkaninchen.

Von 2 gesunden, unbehandelten Kaninchen erhielt das eine 0,1 Deuteroalbumose, das andere 0,1 Natrium nucleinicum intravenös. Das erstere starb nach 3 Tagen

unter sehr starker Temperaturerhöhung; sein Serum agglutinierte am Tage vor dem Tode Typhus bis 1:50, während es ursprünglich einen Titer von 1:25 aufgewiesen hatte. Es wurde dann ein anderes unbehandeltes Kaninchen, dessen Normalserum ebenfalls Typhus bis 1:25 schwach agglutinierte, mit 0,08 Deuteroalbumose intravenös gespritzt. Dadurch stieg sein Titer für Typhus am 3. Tage auf 1:50 und hielt sich etwa eine Woche auf dieser Höhe. Die Temperatur zeigte einen starken Anstieg gleich nach der Injektion und sank dann im Verlauf von 4 Tagen wieder zur Norm. Das mit Natrium nucleinicum gespritzte Tier zeigte dieselben Verhältnisse, nur stieg die Temperatur nicht so stark an.

Diese Kontrollkaninchen führe ich an, um zu zeigen, daß einmal die von mir gewählten Dosen der Proteinkörper die richtigen waren und nicht mehr gut gesteigert werden konnten, ferner aber als Bestätigung dafür, daß die Injektion von Deuteroalbumose oder Natrium nucl. bei normalen Kaninchen zwar die Temperatur in gleicher Weise beeinflusst wie bei vorbehandelten Tieren, den agglutinatorischen Titer des Normalserums aber so ziemlich unverändert läßt. Das steht in Einklang mit den Versuchsergebnissen bei immunisierten Tieren, indem auch hier durch den unspezifischen Reiz ja nur eine Reproduktion der alten Immunagglutinine bewirkt, sonst aber keine oder höchstens eine ganz geringfügige Agglutininbildung hervorgerufen wird.

Aus der Gesamtheit der Kaninchenversuche geht somit zunächst hervor, daß sich im Anschluß an eine Reinjektion von Proteinkörpern meist eine erneute Entwicklung von Agglutininen einstellt. Der stark abgesunkene Agglutinintiter wurde fast überall wieder erhöht und erreichte zum Teil die gleiche Höhe wie bei der ersten spezifischen Vorbehandlung. Dabei scheint im allgemeinen Deuteroalbumose etwas stärker gewirkt zu haben als Natrium nucleinicum.

Die sekundäre Agglutininkurve unterscheidet sich nach Verlauf und Charakter im allgemeinen kaum von der primären. Sie zeigt einen langsamen Anstieg; von einem plötzlichen, steilen Hochgehen schon am 1. Tage, wie dies für die anamnestiche Kurve charakteristisch sein soll, war gewöhnlich nichts zu konstatieren. Meine

Versuche haben, wie die von Tsukahara, das Ergebnis gehabt, daß bei immunisierten, aber von ihren Agglutininen wieder ganz oder größtenteils befreiten Kaninchen unter dem Einfluß eines neuen, unspezifischen Reizes die Agglutinine nicht besonders rasch und nicht in besonders reichen Mengen reproduziert zu werden pflegen.

Nur ausnahmsweise tritt etwas Derartiges ein. In einem Falle war es ein mit V. Metschnikoff vorbehandeltes Tier, dann aber betrafen die Ausnahmen ausschließlich Ruhrbakterien. Hier hat sich in der Tat bei allen 3 Tieren, die mit unserem Sammlungsstamm von Y-Ruhrbakterien (Y „Bern“) vorbehandelt worden waren, bei der Nachbehandlung mit Deuteroalbumose oder Natrium nucl. die Neuentwicklung von Agglutininen in besonderer und von den übrigen Fällen abweichender Weise vollzogen. Die sekundäre Agglutininkurve unterscheidet sich mehr oder weniger deutlich von dem Verlauf einer primären Kurve und von den Agglutininkurven, die bei unseren mit Typhus, Cholera oder Vibrio Metschnikoff vorbehandelten Kaninchen erhalten wurden. Sie weist Ähnlichkeit auf mit den z. B. von Bieling wiedergegebenen anamnестischen Kurven, obwohl ein Wiederaufschnellen der Agglutinationswirkung in unmittelbarem Anschluß an die Injektion der unspezifischen Proteinkörper, ohne Inkubation, auch hier höchstens in einem Falle zu konstatieren war. Eine zweigipflige Kurve, die ebenfalls meist die anamnестische Kurve charakterisieren soll, wurde von mir in keinem dieser Fälle beobachtet. Worauf es beruht, daß gerade die Versuche mit Ruhrbakterien (Y „Bern“) aus dem Rahmen fallen und sich von den Versuchen mit anderen Infektionserregern unterscheiden, ist schwer zu sagen. Es könnte eben daran liegen, daß bei Ruhrbakterien und Ruhragglutination ganz besondere Verhältnisse vorliegen, wofür zunächst vielleicht der Umstand zu sprechen scheint, daß auch Bieling besonders mit Ruhrbakterien experimentiert hat. Andererseits sei nochmals darauf hingewiesen, daß die Versuche von Tsukahara im hiesigen Institut eine solche Sonderstellung der Ruhrbakterien und der Ruhrimmunität nicht ergeben haben, daß vielmehr bei ihm höchstens die mit Cholera immunisierten Tiere eine gewisse Annäherung an einen spezifischen Typus der ana-

mnestischen Kurve beobachten ließen. Es kommt hinzu, daß ich selbst bei der Immunisierung von Kaninchen mit *Vibrio Metschnikoff* auf die Reinjektion unspezifischer Proteinkörper hin sekundäre Agglutinincurven erhalten habe, von denen eine ganz einer primären glich, die andere sich durch fast sofort einsetzenden Anstieg auszeichnete, und daß, wie wir sehen werden, bei Meerschweinchen die sekundäre Ruhrkurve, im Gegensatz zu den Ergebnissen des Kaninchenversuchs, durchaus den Charakter einer primären Kurve trug. Es scheint also, daß doch wohl nicht die Bakterienart als solche und allein für den Charakter der sekundären Agglutinincurve maßgebend ist, sondern daß hier noch unbekannte Faktoren mit im Spiele sind, insbesondere die individuellen Eigenschaften des Versuchstieres, die gelegentlich einmal den Typus der sekundären Agglutinincurve etwas anders gestalten.

Das Verhalten der Körpertemperatur zeigt keinen gesetzmäßigen Zusammenhang mit der Neubildung der Agglutinine. Im allgemeinen verlief die Temperaturkurve bei meinen Kaninchenversuchen umgekehrt zur Agglutininproduktion, der Höhepunkt war relativ kurze Zeit nach der Einspritzung der Proteinkörper erreicht, die Temperatur sank dann fortschreitend wieder ab. In anderen Fällen war freilich der Verlauf ein mehr unregelmäßiger. Die Annahme, daß es nur darauf ankomme, den unspezifischen Reiz möglichst kräftig zu gestalten und einen möglichst hohen Temperaturanstieg zu erzielen, um die schleunige und intensive Neubildung der Agglutinine bei früher immunisierten Tieren herbeizuführen, hat sich somit bei meinen Kaninchenversuchen nicht recht bestätigt; obwohl die Reizwirkung sicherlich eine wesentlich stärkere war als bei den Versuchen von Tsukahara und in jedem Falle hohes Fieber auslöste, stimmen meine Resultate doch im wesentlichen mit denen des eben genannten Autors überein.

Soweit die Beziehungen des von mir untersuchten Phänomens zur Dauer der Immunität in Betracht kommen, so kann also nur gesagt werden, um dies nochmals zu betonen, daß in der Regel die Neubildung von Antikörpern, gemessen an den Agglutininen, bei früher immunisierten Tieren

(Kaninchen) kaum anders erfolgt als bei normalen, erstmalig infizierten Individuen. Immerhin ist es natürlich von Bedeutung, gerade auch für die Auffassung der Immunitätsvorgänge, daß überhaupt schlummernde Agglutinine schon durch einen unspezifischen Reiz wieder neu gebildet und zum Austritt in die Blutbahn veranlaßt werden können.

B. Meerschweinchenversuche.

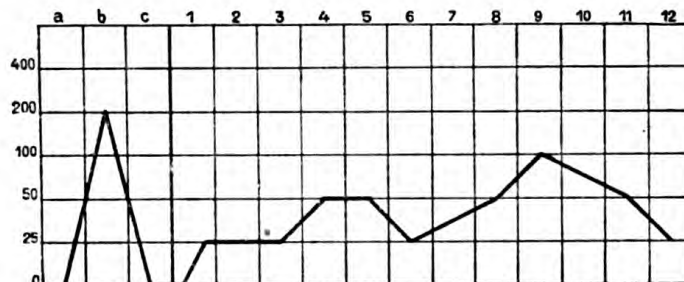
1. Versuchsreihe.

Bei den 3 Tieren dieser Reihe, vorbehandelt mit Typhusbazillen, intraperitoneal, war der Verlauf fast ganz der

Fig. 8. Meerschweinchen II, 550 g.

Vorbehandlung: Typhus; 1. VI. 21 $\frac{1}{10}$ Oese abgetötet ip.

Nachbehandlung: Natrium nucleinicum; 17. X. 21 0,1 ip.



— Typhusagglutinine im Serum.

gleiche. In den ersten Tagen nach der Neuimpfung, beginnend am 2. resp. 1. Tage, macht sich eine leichte Erhöhung des agglutinatorischen Titors bemerkbar; ein stärkerer Anstieg folgt erst später, so daß die Kurve nach 6—9 Tagen den Höhepunkt erreicht. Der Verlauf der Kurven entspricht also im wesentlichen dem einer primären Kurve. Bemerkenswert ist, daß bei einem mit Natr. nucl. nachbehandelten Tiere, dessen Kurve als Beispiel wiedergegeben ist (Fig. 8), der Anstieg sich mit Unterbrechung vollzieht, so daß eine Art zweigipfliger Kurve zustande kommt. Ein Unterschied zwischen der Wirkung des Blutes und des Peritonealexsudates konnte nicht festgestellt werden, wenigstens zeigte auch das Exsudat eine zunehmende Agglutinationskraft, fast genau in der gleichen Weise wie das Blutserum.

Die Temperatur der 3 Tiere ließ übereinstimmend eine Steigerung um etwa 2° an den ersten Tagen erkennen; sie stieg nicht so rasch an wie bei den Kaninchen, blieb aber dafür länger hoch. Das hängt vielleicht damit zusammen, daß die Kaninchen intravenös, die Meerschweinchen intraperitoneal gespritzt wurden. Deuteroalbumose wirkte etwas stärker auf die Temperatur als Natrium nucleinicum.

2. Versuchsreihe.

Auch in dieser Versuchsreihe, bei der zur Vorbehandlung Cholerabakterien verwendet wurden, ergab sich das gewöhnliche Bild. Der Verlauf der Agglutininkurven war etwa der gleiche wie in der ersten Versuchsreihe: Sowohl Natrium nucleinicum als auch Deuteroalbumose lassen die verschwundenen Agglutinine wieder manifest werden, wobei die Agglutininproduktion sich ganz wie bei der primären Agglutininbildung etwa vom 3. Tage an allmählich vollzieht. Der primäre Agglutinititer war nicht über 1:100 bzw. 1:200 hinausgegangen, im Augenblick der Neuimpfung aber wieder auf 0 abgesunken. Er erreichte dann von neuem die alte Höhe. Die Agglutinationswirkung des Peritonealexsudates deckte sich vollkommen mit der des Blutserums, stellte sich also auch nach der Proteinkörperinjektion allmählich wieder ein.

3. Versuchsreihe.

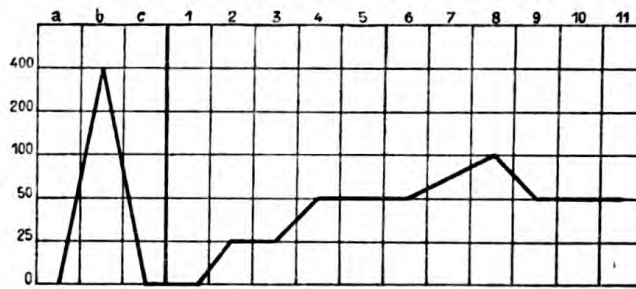
Die Kurven der beiden mit Ruhr Y („Bern“) vorbehandelten Tiere schlossen sich den Kurven der beiden vorangegangenen Versuchsreihen an. Sie zeigten unter dem Einfluß der Reinjektion einen schwachen Neuanstieg ganz in der Form primärer Agglutininkurven. Die Temperatur beider Versuchstiere war dabei im Anschluß an die Einspritzung von Natrium nucl. bzw. Deuteroalbumose wie auch sonst bei den Versuchstieren stark erhöht. Dieses Ergebnis ist insofern von besonderem Interesse, als es im Gegensatz steht zu den Kurven der Y-Ruhragglutinine, die beim Kaninchen von mir erhalten worden sind. Dort konnte bei den sekundären Kurven eine Art anamnestischer Typus im Sinne Bielings beobachtet werden. Auf diese Differenz ist bereits früher hingewiesen worden.

4. Versuchsreihe.

Auch die mit *Vibrio Metschnikoff* vorbehandelten Tiere verhielten sich ebenso wie alle übrigen. Die 3 Tiere dieser Reihe waren im Augenblick der zweiten Injektion mit dem Agglutinititer ihres Serums wieder auf 0 heruntergegangen. Der Titer stieg dann langsam an, durchaus wie bei einer

Fig. 9. Meerschweinchen 11, 630 g.

Vorbehandlung: *Vibrio Metschnikoff*; 1. VI. 21 $\frac{1}{10}$ Oese abgetötet ip.
Nachbehandlung: Deuteroalbumose; 17. X. 21 0,1 ip.



— *Vibrio Metschnikoff*-Agglutinine im Serum.

primären Reaktion, um nach 6—8 Tagen den Höhepunkt zu erreichen. Der Gipfel der sekundären Kurve blieb jedoch in allen 3 Fällen hinter dem der primären zurück. Ein typisches Bild gibt das in Fig. 9 angeführte Beispiel.

Kontrollmeerschweinchen.

Wie bei Kaninchen, wurden auch bei Meerschweinchen Kontrollversuche vorgenommen, um zu sehen, ob etwa bei normalen, unbehandelten Tieren durch die Einverleibung von Deuteroalbumose oder Natrium nucl. und die dadurch bewirkte Abwehrreaktion (Temperatursteigerung) eine Agglutininbildung hervorgerufen werden kann. 2 Tiere wurden zu diesem Kontrollversuch herangezogen. Bei dem einen dieser Normaltiere ließ sich durch 0,1 Deuteroalbumose intraperitoneal ein starker Temperaturanstieg erzielen, wobei eine rasch vorübergehende Agglutininbildung nur für Typhus bis 1:25 auftrat. Das andere Tier erhielt 0,1 Natrium nucleicum intraperitoneal. Eine Agglutininbildung kam hier überhaupt nicht

zustande, und die Beeinflussung der Temperatur war nicht so deutlich, wie beim ersten Kontrolltier. Die in unseren Versuchen regelmäßig beobachtete sekundäre Agglutininkurve ist also immer ein Zeichen einer schon vorausgegangenen spezifischen Agglutininbildung. Sie tritt nur bei immunisierten Tieren auf, auf einen unspezifischen Reiz hin, der seinerseits bei normalen Tieren spezifische Agglutininbildung nicht auszulösen vermag.

Zusammenfassung.

Unsere Versuche haben gezeigt, daß sowohl bei Kaninchen als auch bei Meerschweinchen, die durch ein- oder zweimalige Impfung mit verschiedenen Bakterienarten zur Bildung von Agglutininen angeregt worden waren, in späterer Zeit durch einen unspezifischen Reiz, wie ihn die Einverleibung von Deuteroalbumose oder Natrium nucleinicum darstellt, eine Neubildung der schon ganz oder teilweise verschwundenen Agglutinine veranlaßt werden kann. Ein wesentlicher Unterschied zwischen den Deuteroalbumose- und den Natrium nucleinicum-Kurven war nicht zu konstatieren; in der angewendeten Dosis wirkte Deuteroalbumose zwar etwas stärker, aber der Charakter der beiden Kurvenarten ist nicht grundsätzlich verschieden. Insoweit würden also die Ergebnisse mit den Befunden anderer Autoren übereinstimmen (vgl. Fleck-seder, Seiffert u. a.).

Die Vermutung, daß etwa durch besonders starke Allgemeinreaktion die Art der sekundären Agglutininentwicklung im Sinne von Bieling geändert werden könnte, hat sich nicht bestätigt, denn trotz starker Fieberreaktionen sind die von mir erzielten sekundären Kurven nicht sehr verschieden von denen, wie sie auch Tsukahara bei Reinjektion anderer Bakterienarten erhalten hat. Es zeigte sich, daß die Neubildung der Agglutinine in der Regel weder schneller noch intensiver erfolgt als bei erstmalig immunisierten Tieren, daß also die sekundäre Agglutininkurve in ihrem Verlauf mit dem einer primären Kurve im wesentlichen übereinstimmt. Bei Meerschweinchen hat sich niemals eine Abweichung von diesem Typus nachweisen lassen, wohl aber wurden bei Ka-

ninchen einige Ausnahmen beobachtet. So war namentlich bei den mit Y-Ruhr vorbehandelten Kaninchen der etwas steilere Verlauf der sekundären Kurven bemerkenswert, so daß man zunächst daran denken könnte, es sei dies eine Besonderheit der betreffenden Bakterienart. Demgegenüber ist jedoch hinzuweisen auf die Y-Kurven bei den Kaninchen von Tsukahara, sowie auf die Y-Kurven bei meinen Meer-schweinchen, die sich nicht von den sekundären Kurven anderer Agglutinine unterscheiden. Eine zweigipflige sekundäre Kurve fand sich bei 3 von 20 Tieren. Ein Absinken der Agglutinine in unmittelbarem Anschluß an die Reinjektion der Proteinkörper („negative Phase“) wurde in 5 Fällen beobachtet; es war dies aber immer eine ganz vorübergehende Erscheinung, die nur am 1. (2.) Tage eintrat und am folgenden Tage wieder völlig ausgeglichen war.

Somit bringen also auch die hier berichteten Experimente nur die erneute Bestätigung, daß ein unspezifischer Reiz bei immunisierten Tieren Antikörper wieder neu erstehen oder neu in das Blut übergehen läßt, selbst dann, wenn diese Antikörper vor dem Eingriff überhaupt nicht mehr nachgewiesen werden konnten. Welche Bedeutung dieser Tatsache für die Immunität zukommt, leuchtet ohne weiteres ein und bedarf keiner weiteren Darlegung. Dagegen ist die von verschiedenen Autoren angenommene erhöhte Schlagfertigkeit der Antikörper bei den immunisierten Individuen auf diesem Wege in meinen Versuchen für die Agglutinine in der Regel nicht zu konstatieren gewesen.

Schl u ß s ä t z e.

Durch Injektion von Deuteroalbumose und Natrium nucleicum kann, wie in Uebereinstimmung mit den Erfahrungen anderer Autoren für eine Reihe von Bakterienarten festgestellt wurde, der abgesunkene oder verschwundene Agglutintiter im Blute immunisierter Tiere (Kaninchen Meer-schweinchen) wieder aufgefrischt werden.

Die Antikörper erscheinen dabei im allgemeinen nach einem Inkubationsstadium in allmählichem Anstieg, wie bei erstmalig immunisierten Tieren.

Literatur.

- Bieling, Untersuchungen über die veränderte Agglutininbildung. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 28, S. 246.
- Conradi und Bieling, Ueber Fehlerquellen der Gruber-Widalschen Reaktion. Deutsche med. Wochenschr., 1916, S. 1280.
- Fleckseder, Ausschwemmung von Typhusagglutininen durch Fieber verschiedener Herkunft. W. klin. Wochenschr., 1916, S. 637.
- Friedberger und Dorner, Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, S. 544.
- Hahn und Langer, Ueber das Verhalten der Immunkörper bei täglich wiederholter Blutentziehung. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 26, S. 199.
- Hahn und Neu, Ueber das Verhalten der Antikörper des Normalserums bei täglich wiederholter Blutentziehung. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, S. 349.
- Hajos und Sternberg, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 34, S. 218.
- Klinger, Zur Frage der Titersteigerung durch Blutentziehungen. Zeitschrift f. Immunitätsf., Bd. 27, S. 532.
- Landau, Versuche über den Einfluß großer Blutentziehungen auf die Antikörperbildung. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 86, H. 2.
- Langer, Nochmals: Die Steigerung der Antikörper durch Aderlässe. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31, S. 290.
- Löhr, Die Beeinflussung des Agglutinintiters beim Typhus abd. durch unspezifische Reize. Zeitschr. f. gesamte exp. Med., Bd. 24, H. 1—4.
- Meyer, Berl. klin. Wochenschr., 1921, No. 12.
- Olsen, Die Steigerung des Agglutinintiters durch Aderlässe. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 31, S. 284.
- Ruß und Kirschner, Exp. Studien über die Funktion der Milz bei der Agglutininproduktion. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 32, S. 113.
- Seiffert, Exp. Untersuchungen zur Proteinkörpertherapie. Berl. klin. Wochenschr., 1921, S. 873.
- Trommsdorff, Zur Frage der Steigerung des Agglutinintiters durch große Blutentziehungen. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 32, S. 379.
- Tsukahara, Verlauf der Agglutininbildung bei Infektion normaler und immunisierter Tiere. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 32, S. 410.
- Weichardt und Schrader, Münch. med. Wochenschr., 1919.

Nachdruck verboten.

[Mitteilung aus dem Hygienischen Institut der k. ung. Elisabeth-Universität (Direktor: Prof. B. v. Fenyvessy).]

Ueber die Wirkung der Eiweißabbauprodukte im Blute bei Schwangerschaft, Karzinom, Infektionskrankheiten usw.

Von **L. Reiner** und **A. Marton**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 21. September 1922.)

Nach den neuesten ausgedehnten Forschungen über die Suspensionsstabilität des Blutes und andere, für Infektionskrankheiten, Karzinom, Schwangerschaft charakteristischen Plasma- bzw. Serumeigenschaften, werden diese Erscheinungen durch einen erhöhten parenteralen Eiweißabbau hervorgerufen. [Vgl. Fahreus (1), Linzenmeyer (2), Löhr (3), Westergreen (4), Katz (5), Sachs und Oettingen (6), Frisch und Starlinger (7) u. a.]

Die meisten Blut- bzw. Serumeigenschaften, wie veränderte Suspensionsstabilität (Fahreus), leichtere Flockbarkeit durch Salze (Sachs und Oettingen, Frisch und Starlinger), oder durch Alkohol und Temperaturerhöhung [Darányi (8)], Veränderungen der seroskopischen Struktur [Dold (9)] usw., werden jedoch nicht den Eiweißabbauprodukten, sondern dem Globulin (Fibrino- bzw. Serumglobulin) zugeschrieben, das in diesen Fällen im Serum und besonders im Plasma vermehrt vorhanden ist. Wenn man zusammenfassend von den auf den erwähnten pathologischen bzw. physiologischen Zustände charakteristischen Serum- bzw. Plasmaveränderungen spricht, so wird meistens von einer Erscheinung, die auf eine Globulinvermehrung zurückführbar ist, gesprochen und es wird nicht beachtet, daß eine Vermehrung der Eiweißabbauprodukte im Serum [Hahn (10)] und im Urin [Weiß (11), Salomon und Saxl (12), Falk und Hesky (13), Bechhold und Reiner (14)] eine Verminderung der Oberflächenspannung des Serums (Sachs und Oettingen) die Erhöhung des antitryptischen und antihämolytischen Vermögens des Serums u. a. ebenfalls zu den charakteristischen Symptomen der erwähnten Zustände gehören und größtenteils nicht durch eine Globulinvermehrung verursacht werden. Man wird das ohne weiteres einsehen, wenn man bedenkt, daß die Globulinvermehrung nach Fahreus auf Kosten des Albumins erfolgt, d. h. das Gesamteiweiß bleibt unverändert. Sachs und Oettingen haben zuerst darauf hingewiesen, daß die Serumveränderungen, die für die erwähnten Zustände

charakteristisch sind, durch eine Globulinvermehrung allein nicht erklärbar sind; sie sprechen in diesem Zusammenhange von einem Fällungsvermögen des Serums, dessen Ursache noch unbekannt ist. Schon früher haben Bechhold und Reiner auf Grund gewisser Ueberlegungen und eines stützenden Versuches auf die Möglichkeit hingewiesen, daß die Suspensionsstabilitätsverminderung des Blutes durch die auch im Urin vorhandenen Eiweißabbauprodukte, nach Bechhold Stalagmone, hervorgerufen wird. Schemensky (15) hat die Vermehrung der Urinkolloide und die Suspensionsstabilitätsverminderung in einer großen Anzahl von Fällen untersucht und eine weitgehende Parallelität festgestellt. Die im pathologischen Urin vermehrt auftretende semikolloide Eiweißabbauprodukte sind hauptsächlich die Proteinsäuren (vgl. Weiß, Bechhold und Reiner). Dieselben sind sowohl im Pferdeharn wie auch im Pferdeserum [Browinsky (16)] reichlich vorhanden. Pferdeblut und Serum zeigen aber die erwähnten dem pathologischen Menschenblute eigenen Eigenschaften besonders ausgeprägt.

Demnach scheint es uns angezeigt, die Rolle dieser Abbaukörper, die wir mit Bechhold Stalagmone nennen, in den erwähnten Blut- und Serumveränderungen näher zu untersuchen, um zu sehen, ob diesen Körpern das von Sachs und Oettingen vermutete Fällungsvermögen zu verdanken ist.

I. Für die Entstehung der zurzeit am meisten in den Vordergrund gestellten Serumveränderungen, wie Fibrinogen und Serumglobulinvermehrung, gibt es zwei Erklärungsmöglichkeiten. Entweder entstehen Fibrinogen oder Globulin aus strukturierten Systemen (Gewebe), bei der Zerstörung derselben, oder sie werden erst im Organismus aus Serumbestandteilen und beim Gewebszerfall freiwerdenden Eiweißabbauprodukten gebildet. Im letzteren Falle wäre der ganze für den Infektions- und ähnliche Zustände charakteristische Erscheinungskomplex leicht auf eine Vermehrung bzw. Aenderung der Eiweißabbauprodukte im Blut zurückzuführen. Vieles spricht für diese Erklärungsweise, besonders auch der Umstand, daß das Gesamteiweiß im Blutplasma nicht vermehrt ist. Entsteht aber das Fibrinogen und Globulin gleichzeitig mit den Abbauprodukten aus dem zerstörten Gewebe, so muß eine das Gesamteiweiß des Serums regulierende Vorrichtung existieren.

Herzfeld und Klinger (17) haben darauf hingewiesen, daß vieles dafür spricht, daß Eiweißmoleküle mit ihren Abbauprodukten eine Art

Komplexverbindung bilden, daß ist: Eiweißabbauprodukte sind an der Oberfläche der Eiweißteilchen adsorbiert und beeinflussen so ihre Fällbarkeit.

Nach Herzfeld und Klinger wirken die Eiweißabbauprodukte immer stabilisierend. Man darf doch nicht den Grad dieser Stabilisierung allein von der Konzentration der Eiweißabbauprodukte abhängig denken. Chemische Beschaffenheit derselben spielt höchstwahrscheinlich auch eine gewisse Rolle, so daß man bei Anhäufen gewisser Abbauprodukte im Blut auch eine Steigerung ihrer Fällbarkeit erwarten kann. Aehnlicherweise könnte man sich auch die Entstehung von Fibrinogen aus Albumin oder Serumglobulin durch Adsorption gewisser Eiweißabbauprodukte denken. Eine derartige Verschiebung der Eiweißfällbarkeit im Blut wurde von Moll (18) nach intravenöser Eiweißinjektion tatsächlich beobachtet, auch Erhitzen des Serums wirkt ähnlich [Hirschfeld und Klinger (19), Moll].

Wir haben die von uns aus Urin hergestellten Eiweißabbauprodukte, Stalagmonlösungen, dem Serum und Plasma hinzugefügt, und wollten die Fällbarkeitsänderung untersuchen. Die verwendeten Stalagmonlösungen haben wir zumeist nicht nach dem Barytverfahren von Ginsberg (20) oder Gawinsky (21) hergestellt, da wir darauf kein Gewicht gelegt haben, die Proteinsäuren allein zu isolieren. Wir haben die Urinkolloide nach einer dem Salkowskyschen (22) ähnlichen Verfahren isoliert. Wir verdünnten den zum dünnen Syrup eingedampften schwachsauerer Urin mit 75-proz. Alkohol fraktioniert bis zum Originalvolum. Dabei schieden sich Eiweißkörper, Albumosen und Sulfate aus. Filtrierten ab und dampften das Filtrat bis zum dünnen Syrup wieder ein und versetzten es jetzt abermals portionsweise mit einem Gemisch von Aetheralkohol 2:1, bis das Ausgangsvolum erreicht würde. Die abgeschiedene harzartige Masse wurde nach dem Abgießen der obenstehenden oft farbigen Flüssigkeit mit Aetheralkohol gewaschen, dann oberflächlich getrocknet und in destilliertem Wasser (in ca. 0,1 Teil des ursprünglichen Volums) wieder aufgelöst. Diese Lösungen enthielten noch außer den kolloiden Abbauprodukten auch in geringen Mengen kristalloide Körper: Chloride, Nitrate, Sulfate, Harnstoff und Harnsäure. Einige der bearbeiteten Lösungen wurden dya-

lisiert. Es gelang uns auch so nicht, sie vollständig salzfrei zu bekommen. Vor der Verarbeitung wurden diese Lösungen auf gleiche Farbe gebracht und mit 10-proz. Na_2CO_3 neutralisiert. Die Farbe ist für den Stalagmongehalt ziemlich charakteristisch. Durch Stickstoffbestimmung konnten wir dies zwar nicht nachweisen, da die Lösungen auch Harnstoff enthalten, doch fanden wir, daß der Trockenrückstand dieser Lösungen nur wenig (um ca. 10 Proz.) schwankt und die Asche zwischen 1—2 Proz. liegt. Da wir die Lösung in ganz geringer Menge verwendeten, konnten bei unseren Versuchen die Verunreinigungen (Salze) nicht störend wirken. Die Lösungen haben wir mit „St“ und klinischer Diagnose des betreffenden Kranken bezeichnet.

Während des Isolierverfahrens erleiden die Stalagmone irreversible Veränderungen. Die Lösungen sind nicht sehr beständig und flocken besonders in den ersten Tagen teilweise aus. Die Denaturierung der Stalagmonlösungen wird durch die Aetheralkoholbehandlung hervorgerufen. Je gründlicher diese Auswaschung erfolgt, um so größer wird der unlösliche Rückstand.

Wir haben diese Lösungen in verschiedenen Verhältnissen mit Serum bzw. Plasma gemengt, 2—24 Stunden im Brutschrank gehalten und dann mit destilliertem Wasser gleich stark verdünnten und ebenso behandelten Sera oder Zitratplasma bezüglich ihrer Ausflockbarkeit mit neutralisiertem Magnesiumsulfat und Ammonsulfat verglichen. Eine Verschiebung der Flockungsgrenze konnten wir nicht feststellen. Wir haben auch Kaninchen mit kleinen Mengen der Stalagmonlösungen wiederholt intravenös behandelt. Auch hierbei blieb die Plasma- und Serumflockbarkeit unverändert.

In weiteren Versuchen haben wir die direkte Einwirkung der Stalagmonlösungen auf Zitratblut, d. h. auf die roten Blutkörperchen untersucht. Wir bereiteten 5-proz. und 10-proz. Natriumzitrat enthaltende Stalagmonlösungen und haben sie zu 1:10 mit Blut verdünnt, dann in gleich weite Gefäße so viel abpipettiert, daß die Säule 10 cm hoch war. Wir haben die Senkung der Blutkörperchen 24 Stunden lang in bequemen Zeitabständen beobachtet. Unsere Ergebnisse waren sehr widersprechend. Eine bedeutende Beeinflussung der Senkungs-

geschwindigkeit durch Stalagmonlösungen konnten wir nicht beobachten. Es waren auch diesmal Fälle vorgekommen, bei denen eine Förderung (wie in dem von Bechhold und Reiner mitgeteilten Falle) der Senkungsgeschwindigkeit zu beobachten war. Ebenso oft ist aber auch eine hemmende Wirkung wahrnehmbar.

Es wurden auch elektrophoretische Versuche unter dem Mikroskop angesetzt. Die Umladung der roten Blutkörperchen durch Stalagmone gelang nicht, auch ihre Wanderungsgeschwindigkeit hat sich nicht wesentlich beeinflussen lassen.

Diese Versuche scheinen die Frage nach der Entstehung des Fibrinogens und Globulins im Serum in dem Sinne zu beantworten, daß sie nicht durch die Einwirkung der Eiweißabbauprodukte entstehen. Andererseits glauben wir, daß auf Grund der hier mitgeteilten Versuche diese Folgerung nicht gerechtfertigt wäre. Wir arbeiteten nämlich mit stark veränderten Kolloiden, die öfters und auf längere Zeit auf 100° erhitzt und mit absolutem Alkohol behandelt wurden. Es ist leicht möglich, daß man den im Organismus sich abspielenden Prozeß mit den so behandelten und irreversibel veränderten Kolloiden nicht mehr reproduzieren kann. Außerdem haben wir bloß einen Teil der im Organismus entstehenden höheren Eiweißabbauprodukte untersucht. Es ist denkbar, daß gerade die ausschlaggebenden, also diejenigen, die eine große Affinität zu den Eiweißteilchen haben und auch stark oberflächenaktiv sind, durch irgendwelche Blutbestandteile so fest gebunden werden, daß sie bei der Gerinnung mitgerissen werden und in das Serum und den Urin gar nicht übergehen. Damit scheint es auch im Einklange zu sein, daß es sich bei den oben erwähnten Versuchen über Nachweis der Globulinvermehrung um das Zitratplasma handelt. (Ein Nachweis der Verschiebung der Globulinfällungsgrenze im Serum gelingt bei den schwersten Fällen parenteralen Eiweißabbaus ebensowenig, wie nach Zusatz von Stalagmonlösungen.)

II. Mit weit größerem Erfolg konnten wir die Wirksamkeit der Abbauprodukte bei den pathologischen Serum-eigenschaften nachweisen.

In einer vor kurzem veröffentlichten Arbeit haben wir eine für die Veränderung des Kolloidzustandes charakteristische

Serumreaktion die Formolgelatinierungsreaktion beschrieben. Dort haben wir auch auf die Bedeutung hingewiesen, die den von uns auch hier untersuchten Abbauprodukten den Stalagmonen bei dieser Reaktion zukommt. Wenn man in 1 ccm des Serums der an Tuberkulose, Karzinom, Lues oder anderen infektiösen Krankheiten Leidenden 2—3 Tropfen Formalin hinzufügt, dann gelatiniert das Serum in schweren Fällen schon nach 24 Stunden. Das Serum der Gesunden erstarrt nicht. Wir haben zu Kaninchenserum, das allein nicht gelatiniert, Stalagmonlösungen in absteigenden Mengen hinzugefügt und nachher die Reaktion ausgeführt. Es zeigte sich, daß die Stalagmonlösungen in den hier angesetzten Konzentrationen wirksam sind (vgl. Tabelle I). In dem Röhrchen, in dem mehr Stalagmon war (0,1 ccm einer 10-proz. Lösung) erfolgte die Gelatinierung schon innerhalb 30 Minuten.

Tabelle I.

Formolgelatinierung des Kaninchenserums mit aus dem Urin verschiedener Kranken hergestellten Stalagmonen.

| Zu 1 ccm Serum hinzugefügt | Tbc. 1 | Tbc. 2 | Tbc. 3 | An- ämie | Sark. | Lues 1 | Lues 2 | Gravi- dität 1 | Gravi- dität 2 | Gravi- dität 3 |
|-------------------------------|--------|--------|--------|-------------|-------|--------|--------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 0,10 ccm | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 0,075 ccm | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 0,050 ccm | — | — | + | — | — | — | + | + | + | + |

2. Eine andere wohl noch wenig bekannte Serumreaktion ist die von Darányi (9) empfohlene. Der genannte Autor bestimmt die Fällungsgrenze des Serums gegenüber Alkohol bei 60° und findet sie bei Tuberkulose, Karzinom und Infektionskrankheiten stark erniedrigt. In unserem Laboratorium beschäftigte sich Herr Dr. Duzár mit dieser Reaktion und hat auch die Wirksamkeit der Stalagmone bei derselben untersucht¹⁾. Es stellte sich heraus, daß, wenn man für die Verdünnung des Alkohols statt der vorschriftsmäßigen 2-proz. NaCl-Lösung Stalagmonlösungen verwendet, die Reaktion schon bei einer weit geringeren Alkoholkonzentration positiv ausfällt.

Die Reaktion wurde auch so ausgeführt, daß man zur

1) Wird demnächst im Jahrbuch für Kinderheilkunde erscheinen. Siehe da auch die Tabellen.

Verdünnung des Alkohols Urin verwendete, und zwar einmal den Urin eines Kranken mit positiver Darányi-Reaktion, dann den Urin eines Gesunden mit negativer Darányi-Reaktion. Das mit Normalurin vermengte Serum ertrug doppelt oder manchmal viermal soviel Alkohol, wie das mit pathologischem Urin gemischte Serum.

Ohne Zweifel sprechen auch diese Ergebnisse dafür, daß in der Reaktion von Darányi die Eiweißabbauprodukte, insbesondere die im Urin befindlichen Stalagmone, wirksam sind.

3. Die folgenden zwei Serumreaktionen sind schon lange bekannt. Sie wurden für die Diagnose des Karzinoms empfohlen. Es stellte sich später heraus, daß sie für Karzinom nicht spezifisch sind, sondern bei Tuberkulose und anderen infektiösen Krankheiten sowie auch bei Schwangerschaft auftreten.

Aus den Beobachtungen von R. Weil (23) u. a. über Resistenzsteigerung der Blutkörperchen bei Karzinom und über das Auftreten von Jodhämolytinen bei Karzinom (Kelling, 24) ausgehend, haben wir den Einfluß der Stalagmone auf die Serumhämolyse des Hammelblutes untersucht, indem wir den hämolytischen Titer eines hämolytischen Serums bei konstanter Komplementdosis teils in Gegenwart von Stalagmone, teils ohne solchen ermittelt haben. Wir fanden dabei, daß der Titer durch die Stalagmone stark oft um das 50fache herabgesetzt wird. Dabei erreicht die Konzentration der Stalagmone höchstens 1—5 ‰.

Die Wirksamkeit dieser Substanzen wird noch auffallender, wenn man bei konstanter Ambozeptor- und Komplementmenge (das vierfache des Titers) die Grenze der noch hemmenden Stalagmonmengen austitriert. Es stellte sich heraus, daß zu- meist schon höchstens 2 mg Stalagmon vollständige Hemmung erzeugt.

Hämolysehemmung durch Stalagmone.

Tabelle II a.

| Stalagmon pro 1,25 ccm | Vierfache Menge des hämolytischen Titers | | | | | | | | |
|------------------------------|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 1:2000 | 1:4000 | 1:2000 | 1:4000 | 1:4000 | 1:2000 | 1:1000 | 1:1000 | 1:1000 |
| | Tb. 3 | Tb. 4 | Anäm. | Sark. | Karz. | Lues 1 | Grav.1 | Grav.2 | Grav.3 |
| 0,025 ccm | — | — | — | +++ | +++ | — | — | — | — |
| 0,050 „ | +++ | + | +++ | +++ | +++ | + | — | ± | ± |
| 0,10 „ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ | +++ |

34*

Tabelle IIb.

| Hämolysin | 1:500 | 1:1000 | 1:2000 | 1:4000 | 1:8000 |
|--------------------------------------|-------|--------|--------|--------|--------|
| Name und Menge der Stalagmone | | | | | |
| Tb. 2 0,10 ccm Titer: 1:8000 | ± | ++ | +++ | +++ | +++ |
| Tb. 3 0,05 ccm Titer: 1:16 000 | — | ++ | ++ | +++ | +++ |
| Tb. 4 0,05 ccm Titer: 1:16 000 | — | — | — | ++ | +++ |
| Anämie 0,05 ccm Titer: 1:16 000 | ± | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Sarkom 0,05 ccm Titer: 1:16 000 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Karzinom 0,05 ccm Titer: 1:16 000 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Lues 1 0,10 ccm Titer: 1:8000 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Grav. 1 0,05 ccm Titer: 1:8000 | — | ++ | +++ | +++ | +++ |
| Grav. 2 0,05 ccm Titer: 1:8000 | — | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Grav. 3 0,05 ccm Titer: 1:8000 | — | ++ | +++ | +++ | +++ |

Nach dem hier Mitgeteilten glauben wir, daß das bei den hämolytischen Versuchen wahrnehmbare eigenartige Verhalten des karzinomatösen und tuberkulösen Serums als eine Folgeerscheinung der Anhäufung hochmolekularer Eiweißabbauprodukte aufzufassen ist.

Es war auch sehr interessant, zu entscheiden, ob hier die Eiweißabbauprodukte auf das Komplement wirken oder die Resistenz der Blutkörperchen steigern. Nach den Befunden von Weil war eher das letztere zu erwarten. Um diese Frage zu entscheiden, haben wir die gewaschenen Blutkörperchen mit einer entsprechend verdünnten Stalagmonlösung und Hämolysin digeriert, dann abzentrifugiert und zu den so behandelten roten Blutkörperchen Komplement hinzugefügt. Die Hämolyse war gehemmt, während sie bei den bloß mit Hämolysin behandelten roten Blutkörperchen vollständig war.

Dieser Versuch zeigt, daß es sich bei den erwähnten Hämolysehemmungen nicht um eine Einwirkung auf das Komplement, sondern eher um eine Verdrängung derselben handelt (Hämolysin war im großen Ueberschuß). Die Eiweißabbauprodukte besetzen die Oberfläche der Blutkörperchen,

verhindern so die direkte Bindung des Komplementes und täuschen eine Resistenzerhöhung vor. Es ist wichtig, zu betonen, daß mit diesem Versuch auch der Beweis für die Bindung der Eiweißabbauprodukte an der Oberfläche der roten Blutkörperchen gegeben wurde.

4. Eine andere von Brieger und Trebing (25) für die Karzinomdiagnose empfohlene Serumveränderung ist die Erhöhung des antitryptischen Vermögens des Serums. Sie findet bekanntlich außer bei Karzinom auch bei Schwangerschaft, Tuberkulose und anderen infektiösen Krankheiten statt.

Diese Reaktion wurde zuerst als eine Immunitätsreaktion aufgefaßt, dann hat E. Rosenthal (26) die Hypothese aufgestellt, daß es sich hier um eine Wirkung der Eiweißabbauprodukte handelt. Döblin (27) hat eine antitryptische Wirkung des Urins beobachtet, die wahrscheinlich von den Eiweißprodukten herrührte. Nach Rosenthal wird bei diesen Prozessen diese Konzentration der Abbauprodukte erreicht, die dem Gleichgewichte zwischen dem lytischen und synthetischen Vermögens des Fermentes entspricht. Wir können dieser Anschauung nicht beipflichten. Wir fassen diese Wirkung eher als eine durch Adsorption verursachte Fermentgiftwirkung auf.

Bei der Ausführung unserer Versuche benützten wir die Methode von Groß und Fuld. Statt Serum verwendeten wir Stalagmonlösungen verschiedener Herkunft. Wir bestimmten sowohl die Titerverschiebung wie auch die bei einer bestimmten Trypsinmenge noch hemmende Dosis der Stalagmone.

Aus Tabelle III ist es ersichtlich, daß 0,2 ccm Stalagmonlösung eine Verschiebung des Titers um 3–4 Stellen ver-

Die antitryptische Wirkung der Stalagmone.

Tabelle IIIa.

| | Menge der Stalagmone in ccm | | | |
|--------|-----------------------------|-------|-------|------|
| | 0,010 | 0,025 | 0,050 | 0,10 |
| Lues 1 | — | — | ± | + |
| 2 | — | ± | + | + |
| Tb. 2 | ± | + | + | + |

Tabelle IIIb.

| Trypsin 0,6 ‰ | 0,50 ccm | 0,60 ccm | 0,70 ccm |
|------------------|----------|----------|----------|
| Titer: 0,20—0,30 | | | |
| Tb. 2 | + | ± | — |
| Tb. 3 | + | + | + |
| Tb. 4 | + | — | — |
| Anämie | + | + | + |
| Sarkom | + | + | + |
| Karzinom | + | + | + |
| Gravid. 1 | + | ± | — |
| Gravid. 2 | + | + | + |
| Gravid. 3 | + | ± | — |

ursacht und das zuweilen auch 0,01 ccm einer Stalagmonlösung genügt, um eine Hemmung der Trypsinverdauung zu verursachen.

Die Wirksamkeit der Stalagmone ist eine beträchtliche, doch ist sie nicht so groß, daß man die Wirkung der entsprechenden Sera auf Grund der hier mitgeteilten Versuche allein ihrem Stalagmongehalt zusprechen könnte. Es ist möglich, daß noch andere Eiweißabbauprodukte im Serum die Wirkung der Stalagmone unterstützen.

5. Die experimentelle Anaphylaxie entsteht ebenfalls durch parenterale Zufuhr von Eiweißkörpern. Die Rolle der Eiweißabbauprodukte (Friedberger) und der Dispersitätsänderungen (Bordet, Sachs und Ritz, Dold usw.) wurde in diesem Zusammenhange schon oft erörtert. Die beiden Auffassungen, daß nämlich der Shock durch eine Zustandsveränderung der Serumkolloide oder durch die Eiweißabbauprodukte hervorgerufen wird, gelten als entgegengesetzte. Wir haben im Teil 1 dieser Arbeit auf die Möglichkeit hingewiesen, daß die Zustandsveränderungen der Kolloide sekundär durch die Eiweißabbauprodukte hervorgerufen werden. Die meisten der uns hier interessierenden Serumeigenschaften wurden beim anaphylaktischen Tier nicht untersucht. Doch sprechen die erwähnten Umstände und auch, daß das Serum der anaphylaktischen Meerschweinchen nach Rusznyák (28), H. Pfeifer (29) ein erhöhtes antitryptisches Vermögen besitzt dafür, daß die Anaphylaxie auch zu den uns interessierenden nachinfektiösen Zuständen gehört und unter denen vielleicht eben ein Spezialfall vertritt.

Wir haben deswegen jene Erscheinungen untersuchen wollen, welche von Stalagmonen intravenös injiziert hervorgerufen werden. Die hier folgenden Auszüge aus unseren Versuchsprotokollen zeigen, daß unsere Stalagmonlösungen dem Anaphylatoxin ähnlich wirken.

Versuch 1. 4. IV. Meerschweinchen, 307 g, erhält 4 ccm St. Tb. 2 (steril) intravenös. Das Tier wird während der Injektion sehr unruhig und verendet unter krampfhaften langen Inspirationen in einigen Sekunden. Sektionsbefund: Lungenblähung, Gerinnungshemmung; Blut noch nach 30 Minuten fast überall flüssig; sonst ohne Befund.

Versuch 2. 10. IV. Meerschweinchen, 320 g, erhält 1,2 ccm St. Tb. 2 intravenös. Verendet nach kaum 2 Minuten unter krampfhaften Inspirationen. Sektionsbefund: Lungenblähung, Blutungen in der Lunge und in der Pleura, Gerinnungshemmung. Sonst ohne Befund.

Versuch 3. 10. IV. 290 g, erhält 3 ccm St. Tb. 2 intraperitoneal. In der ersten Minute macht das Tier einige träge Bewegungen, dann fängt es an zu schnuppen und zu kauen, atmet tief, wirft sich auf die Seite und erhält die auf die Anaphylaxie charakteristischen Krämpfe; verendet nach 4—5 Minuten unter krampfhaften Inspirationen. Während der Sektion fanden wir noch einen großen Teil der braunen Flüssigkeit in der Bauchhöhle. Lungenblähung; Gerinnungshemmung. Blutbild: 27 Proz. neutrophile, 1 Proz. eosinophile Leukozyten, 72 Proz. Lymphozyten. Durch Komplementtitration konnten wir im Serum eine 25-proz. Abnahme des Komplementgehaltes nachweisen.

Wir sehen demnach, daß Meerschweinchen von 1—4 ccm der ca. 10-proz. Stalagmonlösung fast momentan unter den anaphylaktischen, shockähnlichen Symptomen zugrunde gehen. Wegen Mangel an Versuchstieren haben wir davon abgesehen, die Toxizitätsgrenze genau auszutitrieren. Wir haben jedoch an einem Versuch zeigen können, daß sie zwischen 0,3 und 1 ccm der Lösung liegt.

Versuch 8. 7. IV. Meerschweinchen, 430 g, erhält 0,3 ccm St. Tb. 2-Lösung intravenös. Flüchtliges Unwohlsein, Schnuppen, Kaubewegungen, keine Krämpfe. Temperatur 1 Stunde nach der Injektion 34°. Das Tier erholt sich.

12. IV. erhält dasselbe Meerschweinchen 0,6 ccm St. Tb. 2 in die zweite Jugularis. Auffallende Schwäche, Urin- und Kotentleerung. Temperatur 32,4°. Blutbild vor der Injektion: Leukozyten 30 Proz., Lymphozyten 70 Proz.; nach der Injektion: Leukozyten 66 Proz., Lymphozyten 34 Proz.

18. IV. 1,2 ccm St. Tb. 2 intraperitoneal. Ohne Symptome. Blutbild: Leukozyten vor der Injektion: 8100, hiervon neutrophile 48 Proz.,

eosinophile 2 Proz., und Lymphozyten 50 Proz.; nach der Injektion: 7800, neutrophile 31 Proz., eosinophile 7 Proz., Lymphozyten 62 Proz.

Diesen Versuch glauben wir so deuten zu können, daß das Tier gegen das Toxin immun oder eher durch geringere Mengen antianaphylaktisch geworden ist.

Am 27. IV. erhielt dasselbe Tier abermals 1 $\frac{1}{2}$ ccm St. Tb. 2 intraperitoneal. Urin- und Kotentleerung, einzelne Zuckungen; Temperatur 32°. Blutbild vor der Injektion: Leukozytenzahl 8900, hiervon neutrophile 44 Proz., Lymphozyten 56 Proz.; nach der Injektion: Leukozytenzahl 4800, hiervon 26 Proz. Neutrophile, 74 Proz. Lymphozyten.

Die Reaktion war demnach bei dieser Reinjektion stärker als bei den früheren, rascher nacheinander folgenden Reinjektionen. Blutbild und Temperatursturz, Komplementschwund zeugen auch für die Identität der Reaktion mit der anaphylaktischen.

Von anderen Versuchstieren konnten wir bei weißen Ratten eine ähnliche, fast ebenso starke toxische Wirkung der Stalagmonlösungen nachweisen. Ein Tier, 150 g, verendete nach intravenöser Injektion von 1 ccm Stalagmonlösung nach einigen Sekunden. Bei der Sektion fanden wir die Lungen gebläht, das Blut ungeronnen. Subkutan angewandt haben 2 Tiere die Injektion von 1 ccm St. Tb. 2 ertragen. Bei Kaninchen konnten wir auch nach der Injektion von 4—5 ccm Stalagmonlösung in eine Ohrvene außer einer starken Gerinnungshemmung keine anderen Symptome beobachten.

Es ist bekannt, daß Eiweißabbauprodukte oft auch gut definierbare Körper (β -Immidazoläthylamin) in ihrer biologischen Wirksamkeit dem Anaphylatoxin ähnlich sind. Daß solche Körper im Urin gewisser Kranken (Infektionskranke, nach Verbrennungen) zu finden sind, haben R. Pfeiffer (29) und andere nachgewiesen. Pfeiffer fand den Harn des anaphylaktischen Tieres giftig. Demnach wäre es an sich nicht überraschend, daß die aus dem Harn hergestellten Abbauprodukte (Proteinsäuren) ebenfalls giftig sind. Bedeutsam wird diese Beobachtung dadurch, daß wir nach dem oben Mitgeteilten auch eine Beziehung derselben Stoffe zu dem Infektionszustand erkannt haben.

Demnach glauben wir, daß man den Stalagmonen eine spezielle Stellung unter den Shock erregenden Eiweißabbau-

produkten einräumen muß. Während andere ähnlich wirkende, jedoch in vitro dargestellte Eiweißderivate unter pathologischen Verhältnissen im Organismus gar nicht oder nicht vermehrt vorkommen, sind die Stalagmone im Urin der Infektionskranken ständig vermehrt vorhanden. Sie sind fähig, im Serum solche Erscheinungen hervorzurufen, die für die Infektions- oder anderen, mit parenteralem Eiweißabbau einhergehenden Prozesse charakteristisch sind. Es ist also höchst wahrscheinlich, daß sie auch das eigentliche anaphylaktische Gift enthalten.

Aus der experimentellen Anaphylaxieforschung ist es bekannt, daß die Antianaphylaxie nur durch das spezifische Antigen hervorgerufen wird. Wir wollten durch Stalagmonlösungen eine der Antianaphylaxie entsprechende Erscheinung hervorrufen. Hierzu verwendeten wir mit Pferdeserum wie üblich präparierte Meerschweinchen und behandelten sie vor der Reinjektion mit Stalagmonlösung.

Versuch 12. 5. VII. Wir haben zwei von einer Mutter stammende, gleich große und gleich alte Meerschweinchen mit 1 ccm Pferdeserum subkutan behandelt.

Am 23. VII. haben wir dem einen Tier 0,3 ccm St. Tb. 3 intraperitoneal, 5 Minuten später 0,3 ccm derselben Lösung intravenös verabreicht. Nach abermals 5 Minuten erfolgte die Reinjektion von 0,5 ccm Pferdeserum. Das Tier wird unwohl, nach $\frac{1}{2}$ Stunde werden einige Krämpfe beobachtet; das Tier verendet erst nach 36 Stunden in der Nacht. Kontrolltier verendet unter charakteristischen Symptomen in $\frac{1}{2}$ Stunde.

Bei Wiederholung des Versuches vermochten wir das Tier auch nicht vor dem Tod zu schützen; es gelang uns jedoch auch diesmal, das Tier 48 Stunden lang am Leben zu erhalten.

Es scheint demnach, daß man mit geeigneten Dosen der Stalagmonlösungen die spezifische Auslösung des anaphylaktischen Shocks verhindern oder wenigstens stark verzögern kann. Es ist möglich, daß diese Erscheinung mit der spezifischen Antianaphylaxie in enger Beziehung steht.

Man kann unabhängig von Vorstellungen über das Entstehen des anaphylaktischen Zustandes sagen, daß es unter shockauslösendem und antianaphylaktisierendem Prozeß bloß quantitative Unterschiede gibt. In beiden Fällen sind die

wirksamen Stoffe identisch. In unserem Versuch konnten wir in dem zweiteiligen Prozeß den wirksamen Stoff einmal durch Stalagmonlösung mit Erfolg ersetzen. Wir glauben, daß dieser Versuch für eine Beziehung zwischen anaphylaktischem Gift und Stalagmonlösungen spricht.

Zusammenfassung.

I. Aus verschiedenen Gründen ist es angezeigt, die Vermehrung der Globuline im Blut und dessen Folgeerscheinungen (z. B. auch die Stabilitätsverminderung der Blutkörperchen) als eine Wirkung der vermehrten Eiweißabbauprodukte aufzufassen. Diese Hypothese war der Ausgangspunkt unserer Untersuchungen. Wir benutzten bei unseren Versuchen die physiologischerweise entstehenden und mit dem Harn ausgeschiedenen hochmolekularen Eiweißabbauprodukte (Proteinsäure bzw. Stalagmone nach Bechhold). Durch Zusatz dieser Stoffe sollten den normalen Sera die erwähnten pathologischen Eigenschaften verliehen werden. Dies gelang uns, was die Globulinvermehrung und Suspensionsstabilität betrifft, nicht.

II. Hingegen haben wir die unmittelbare Wirksamkeit der Stalagmonlösungen bei der Formolgelatinierungsreaktion, bei der Ausflockungsreaktion von Darányi, bei der Hämolysehemmung gewisser pathologischer Sera und bei der anti-tryptischen Reaktion nachweisen können.

Ebenso kann man durch Anhäufung der Stalagmone im Serum die Verminderung der Oberflächenspannung der Schwangerschaftssera erklären.

Unsere Tierversuche zeigen, daß die Stalagmone die Blutgerinnung verzögern. Diese Erscheinung wird ebenfalls als charakteristisch für den Infektionszustand angesehen.

Die Stalagmonlösungen enthalten für Meerschweinchen und Ratten shockerregende Gifte. Es wird auf die möglichen Beziehungen der Stalagmone zu dem anaphylaktischen Gift hingewiesen.

Literatur.

- 1) The Suspensionstability of the blood. Stockholm 1921.
Biochem. Zeitschr., Bd. 89, 1918, S. 355.
- 2) Pflügers Arch., Bd. 181, 1920, S. 169; Arch. f. Gynäkol., Bd. 113, 1920.
- 3) Klin. Wochenschr., 1922, Heft 10.
- 4) Klin. Wochenschr., 1922, Heft 27, S. 1359.
- 5) Zeitschr. f. Tuberk., Bd. 36.
- 6) Münch. med. Wochenschr., 1921, Heft 12, S. 351.
- 7) Med. Klin., 1921, Heft 38/39, S. 1153.
- 8) D. med. Wochenschr., 1922, No. 17.
- 9) Arch. f. Hyg., Bd. 89.
- 10) Biochem. Zeitschr., Bd. 121, S. 262.
- 11) Ebenda, Bd. 27, 1910, S. 201.
- 12) Beiträge zur Krebsforschung, 1910, Heft 2; Med. Klin., 1910, S. 510.
- 13) Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 71, 1910, S. 261.
- 14) Biochem. Zeitschr., Bd. 108, S. 98; Münch. med. Wochenschr., 1920, S. 16.
- 15) Münch. med. Wochenschr., 1920, S. 1228.
- 16) Chem. Zeitung, 1908, Heft 26, S. 334.
- 17) Biochem. Zeitschr., Bd. 83, S. 42.
- 18) Hofmeisters Beitr., Bd. 4, 1904; Bd. 7, S. 1203.
- 19) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914.
- † 20) Hofmeisters Beitr., Bd. 10, 1907.
- † 21) Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 58, 1909.
- † 22) Berlin. klin. Wochenschr., 1910, No. 38.
- * 23) Arch. of intern. Med., Vol. 1; Journ. of Med. Res., Vol. 19, 1908.
- * 24) Berlin. klin. Wochenschr., 1905, Heft 29 u. 30; Arch. f. klin. Chir.,
Bd. 180, 1906, S. 285; Bakt. Centralbl., 1907, S. 355.
- 25) Berlin. klin. Wochenschr., Ref. 1908, Heft 22, 29, 51.
- 26) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 19, S. 477; Folia Ser., Bd. 7, S. 285.
- 27) Ebenda, Bd. 4, S. 229.
- 28) Dtsch. med. Wochenschr., 1912, Heft 4.
- 29) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, S. 550.

† Zitiert nach Neuberg, Der Harn.

* Zitiert nach Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen: H. Apolant, Die experimentelle Erforschung der Geschwülste.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Biochemischen Laboratorium der Vereinigten Fabriken
für Laboratoriumsbedarf in Berlin.]

Die Abhängigkeit der Wirkung des Trypaflavin und des Rivanol von der Alkalität.

Von **L. Michaelis** und **J. Hayashi**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 7. Oktober 1922.)

In einer früheren Mitteilung wurde festgestellt, daß das Desinfektionsvermögen der Alkaloide der Chininreihe nicht eindeutig durch die Konzentration derselben bestimmt wird, sondern auch von der Wasserstoffionenkonzentration abhängt, in dem Sinne, daß das Desinfektionsvermögen bei gegebener Konzentration des Alkaloids mit steigender Alkalität zunimmt. Als ausreichende Erklärung wurde gegeben, daß das desinfizierende Vermögen nur durch die Konzentration an freier Alkaloidbase bestimmt wurde. Diese Erklärung ist um so wahrscheinlicher, wenn wir auf die in der früheren Arbeit noch nicht erwähnte Untersuchung von Vermast¹⁾ Bezug nehmen, welcher für die Benzoesäure nachgewiesen hat, daß das desinfizierende Vermögen der Konzentration der undissoziierten Benzoesäure proportional ist. Da die undissoziierten Moleküle sowohl der Alkaloide wie der Benzoesäure gleichzeitig oberflächenaktiver und lipidlöslicher als die Ionen sind, so stehen diese Erscheinungen wohl in einem ursächlichen Zusammenhang. Es war nun von Interesse, die gleichen Verhältnisse bei den neuerdings von der chemotherapeutischen Forschung als Desinfektionsmittel gefundenen Farbstoffe zu untersuchen, und wir wählten als gute Typen für solche das schon länger bekannte Trypaflavin von Ehrlich und das Rivanol von Morgenroth. Es wird sich zeigen, daß sich diese beiden Farbstoffe in der von uns untersuchten Beziehung durchaus verschieden sind.

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 125, 1922, S. 106.

1. Versuche mit Trypaflavin.

Die Versuche wurden in ähnlicher Weise wie bei Michaelis und Dernby¹⁾ mit *Staphylococcus aureus* angestellt. Die Bakterien wurden auf schrägen Agarröhrchen gezüchtet und nach 24stündigem Wachstum mit 5 ccm NaCl-Lösung abgeschwemmt. Hiervon wurde 0,1 ccm zu einem Gesamtvolumen von 2 ccm aufgefüllt, wovon die Hälfte aus Trypaflavinlösung und die Hälfte aus der Pufferlösung bestand. Nach 24stündigem Aufenthalt bei 37° wurde von diesen Aufschwemmungen eine Oese auf eine Agarplatte geimpft, und nach weiteren 24 Stunden das Wachstum abgelesen. In den Pufferlösungen wurde p_H vor Zusatz des Farbstoffes mit der Indikatorenmethode ohne Puffer von Michaelis bestimmt. Zunächst ein Versuch über die Resistenz des *Staphylococcus* in Trypaflavinlösung ohne Pufferzusatz:

| | | | | |
|----------------------------|-----------|-------------|-----------|-----------|
| Verdünnung des Trypaflavin | 1:32 000 | 1:64 000 | 1:128 000 | 1:256 000 |
| Bakterienwachstum | — | — | — | ± |
| Verdünnung des Trypaflavin | 1:512 000 | 1:1 024 000 | | |
| Bakterienwachstum | + | ++ | | |

Bei nur zweistündiger Einwirkung war die desinfizierende Grenzkonzentration bedeutend höher, und zwar:

| in einem Versuch: | | | | |
|---------------------------|--------|--------|----------|----------|
| 1:1600 | 1:3200 | 1:6400 | 1:12 800 | 1:25 600 |
| — | — | ± | + | ++ |
| in einem anderen Versuch: | | | | |
| 1:2000 | 1:4000 | 1:8000 | 1:16 000 | 1:32 000 |
| — | ± | + | ++ | ++ |

Die Versuche mit Pufferlösungen wurden sämtlich mit Phosphatgemischen nach Sørensen angestellt und ergaben folgendes Resultat:

| Phosphatgem. Mischungszahl nach Sørensen | Kalorim. ge- messen p_H | Verdünnung des Trypaflavin | | | | | | | |
|--|---------------------------------|----------------------------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-------------|-------------|
| | | 1:16 000 | 1:32 000 | 1:64 000 | 1:128 000 | 1:256 000 | 1:512 000 | 1:1 024 000 | 1:2 048 000 |
| 9,9 | 8,4 | — | — | — | — | + | + | ++ | +++ |
| 9,0 | 7,8 | — | — | — | — | + | ++ | ++ | +++ |
| 8,0 | 7,6 | — | — | — | — | + | + | ++ | +++ |
| 5,0 | 6,8 | — | — | — | — | ± | + | ++ | +++ |
| 1,0 | 6,0 | — | — | — | — | ± | + | ++ | +++ |
| 0,2 | 5,2 | — | — | — | — | + | + | ++ | +++ |

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 34, 1922, S. 194.

Ein Versuch mit zweistündiger Einwirkung ergab folgendes Resultat:

| Phosphat-gem. | p_H | Definitive Verdünnung des Trypaflavin | | | | | |
|---------------|-------|---------------------------------------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|
| | | 1:16 000 | 1:32 000 | 1:64 000 | 1:128 000 | 1:256 000 | 1:512 000 |
| 9,9 | 8,4 | — | + | + | ++ | ++ | +++ |
| 8 | 7,6 | — | + | ++ | +++ | +++ | +++ |
| 5 | 6,8 | — | + | + | ++ | ++ | +++ |
| 1 | 6,0 | — | + | + | ++ | +++ | +++ |
| 0,2 | 5,2 | + | + | + | ++ | ++ | +++ |

Wir können somit in diesen Versuchen eine sichere Abhängigkeit der Wirkung von p_H , wenigstens in dem untersuchten Bereich von p_H , nicht erkennen. Dieses Bereich läßt sich auch nicht bedeutend erweitern, weil seine Grenzen schon nicht mehr weit entfernt sind von derjenigen Azidität bzw. Alkalität, welche an sich schon Staphylokokken tötet.

2. Versuche mit Rivanol.

Die Versuche mit Rivanol ergaben zunächst in den Versuchen ohne Puffer als Grenzkonzentration folgendes:

| | | | | | |
|------------------------|-----------|--------|----------|----------|----------|
| Verdünnung des Rivanol | 1:4000 | 1:8000 | 1:16 000 | 1:32 000 | 1:64 000 |
| Bakterienwachstum | — | — | + | ++ | +++ |
| Verdünnung des Rivanol | 1:128 000 | | | | |
| Bakterienwachstum | +++ | | | | |

Die Versuche mit Puffer ergaben folgendes Resultat:

| Phosphat-gemisch | Kalorim. gemessen p_H | Verdünnung des Rivanol | | | | | | | | |
|------------------|----------------------------|------------------------|--------|--------|--------|----------|----------|----------|-----------|-----------|
| | | 1:1000 | 1:2000 | 1:4000 | 1:8000 | 1:16 000 | 1:32 000 | 1:64 000 | 1:128 000 | 1:256 000 |
| 9,9 | 8,4 | — | — | — | — | — | — | ++ | +++ | +++ |
| 8 | 7,6 | — | — | — | — | — | + | ++ | +++ | +++ |
| 5 | 6,8 | — | — | — | — | + | + | ++ | +++ | +++ |
| 1 | 6,0 | — | — | — | + | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 0,2 | 5,2 | — | + | + | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |

Diese Versuche wurden mehrere Male mit fast identischem Resultat wiederholt.

Wir sehen also beim Rivanol eine sehr starke Abhängigkeit des desinfizierenden Vermögens vom p_H . Die Grenzkonzentrationen bei $p_H = 5,2$ und bei $p_H = 8,4$ unterscheiden sich um das 32fache. Dieser Unterschied zwischen Trypaflavin und Rivanol ist sehr auffällig, und es liegt daher die Frage nahe, ob die beiden Farbstoffe sich in anderen physiko-chemischen Eigenschaften in demselben Sinne unterscheiden.

Zunächst machten wir eine orientierende Untersuchung über die Oberflächenspannung. Für Trypaflavin ergab sich folgendes:

Eine 0,1-proz. Lösung von Trypaflavin wurde mit der neunfachen Menge verschiedener Lösungen versetzt und zeigte dabei folgende Tropfenzahl (Wasserwert der Tropfpipette 100,6). (Die Konzentrationen sind die definitiven der Mischung.)

| | |
|--------------------------------------|-------|
| 1) destilliertes Wasser | 99,8 |
| 2) 0,01 HCl | 101,6 |
| 3) 1 : 150 molar sekundäres Phosphat | 98,5 |
| 4) 0,005 normal NaOH | 99,4 |
| 5) 0,01 normal NaOH | 98,3 |
| 6) 0,1 normal NaOH | 99,8 |

Wir sehen hieraus, daß innerhalb eines weiten Bereichs von p_H die Oberflächenspannung des Trypaflavin sich nicht merklich ändert und der des Wassers praktisch gleich ist. Anders beim Rivanol:

| | |
|--|-------|
| Wasserwert der Tropfpipette | 106,6 |
| 1) 0,01 normal HCl | 106,5 |
| 2) 1 : 150 normal. sekundäres Phosphat | 116,0 |
| 3) 0,005 normal NaOH | 116,0 |
| 4) 0,01 normal NaOH | 105,3 |
| 5) 0,05 normal NaOH | 105,3 |

Hier ist also die Oberflächenspannung in dem Gebiete leichter Alkalität deutlich verkleinert, um bei noch stärkerer Alkalität wieder auf den Wasserwert abzufallen. Wenn auch die Erniedrigung der Oberflächenspannung bei weitem nicht so groß ist wie bei stark oberflächenaktiven Stoffen, z. B. bei Estern oder bei höheren Alkoholen, so ist sie doch deutlich nachweisbar. Wir kommen zu dem bemerkenswerten Resultat,

daß bei Trypaflavin, bei dem eine Oberflächenaktivität überhaupt nicht nachweisbar ist, auch keine Abhängigkeit der desinfizierenden Wirkung vom p_H besteht, daß dagegen beim Rivanol, bei dem eine vom p_H abhängige, „bedingte“ Oberflächenaktivität besteht, auch die desinfizierende Wirkung vom p_H abhängt.

Worauf die Unterschiede zwischen den beiden Farbstoffen beruhen, darüber kann man bisher nur Vermutungen äußern. Die Beobachtung ergab, daß bei Zusatz von starker Lauge das Rivanol schon in geringerer Laugenkonzentration ausfällt als das Trypaflavin. Man könnte daher vielleicht vermuten, daß das Rivanol eine schwächere Base ist als das Trypaflavin, jedoch bedarf es zur Bestätigung dieser Vermutung noch besonderer Untersuchungen über die Dissoziationskonstanten dieser Farbbasen. Wir besitzen bisher keine brauchbare Methode, um diese zu messen, denn in solchen Farbstofflösungen ist eine p_H -Messung weder mit der Gaskette möglich, weil die Farbstoffe als reduzierbare Körper die Platinelektrode vergiften, noch ist eine kolorimetrische Bestimmung mit Indikatoren möglich, wegen der allzu starken Eigenfarbe der Lösungen. Es wird die Aufgabe einer späteren Untersuchung sein, dieses Problem auf andere Weise zu lösen.

Zusammenfassung.

Die desinfizierende Wirkung des Rivanol ist in ähnlicher Weise vom p_H abhängig, wie das der Chininalkaloide.

Beim Trypaflavin ist eine Abhängigkeit der Wirkung vom p_H nicht nachweisbar.

Nachdruck verboten.

[Aus der II. medizinischen Universitätsklinik in Wien
(Vorstand: Hofrat Prof. Dr. N. Ortner).]

Beitrag zum Chemismus der Meinicke-Reaktion (D.M.).

Von Dr. **Karl Bauer.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 6. Oktober 1922.)

Seitdem Meinicke im Jahre 1917 seine Flockungsreaktion in die Serologie eingeführt hat, laufen auch schon die Untersuchungen über das Wesen der Reaktion, beziehungsweise darüber, aus welchen Substanzen jene Flocken bestehen. Meinicke selbst zählt am Schlusse einer Arbeit eine Zusammenstellung der serologischen Luesreaktionen auf, wo er in einer eigenen Gruppe jene anführt, die den „direkten Nachweis durch Fällung der Globuline“ erbringen; und in diese Gruppe reiht er sowohl seine zweizeitige (M.R.) als auch seine einzeitige Probe (D.M.) ein. Damals also hielt man die Flocken, die bei positiven Seren entstehen, für Globuline. Auch noch im darauffolgenden Jahre betont H. Sachs in einer gemeinsamen Arbeit mit Georgi seinen Standpunkt, daß man strenge unterscheiden müsse zwischen der einfachen Flockbarkeit der Serumglobuline und den Globulinveränderungen, die durch Zusammenwirken eines Serums mit einem geeigneten Extrakte entstünde. Die erstere, die Meinicke die „nicht kolloidale Reaktion“ nennt, kommt zwar vielfach bei Syphilis vor, ist aber keinesweges auf diese Krankheit beschränkt. Die andere Art nennt Meinicke „die kolloidale Reaktion“. Sachs glaubte darin einen gleichsam sekundären Vorgang erblicken zu können, der durch die für Lues charakteristische Reaktion mit den Extraktlipoiden verursacht wird. Im wesentlichen handelte es sich nach den Ansichten dieser Autoren um eine physikalische Aenderung der Globuline, die eben die Ausflockung bewirkt.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 36.

35

Einen Schritt weiter in der Untersuchung der Meinickeflocken ging Kafka. Er versetzte das zu untersuchende Flüssigkeitsgemenge mit Sudan IV und beobachtete dabei, daß sich durch diesen Vorgang die Flocken rot färbten; daraus schloß er auf die Anwesenheit von Lipoiden, da ja diese eine große Affinität zu Sudan IV besitzen. Ueber die Flocken, die bei der Sachs-Georgi-Reaktion entstehen, die nach vielen Autoren identisch mit den Meinickeflocken sein sollen, veröffentlichte im selben Jahre Mandelbaum seine Versuchsergebnisse. Er fügte den Seren eine bestimmte Menge destillierten Wassers zu, und fällte durch Kohlensäureeinleitung die Globuline. Nachdem er diese durch scharfes Zentrifugieren entfernt hatte, stellte er mit der Restflüssigkeit die Sachs-Georgi-Reaktion an und erhielt die gleichen Resultate wie mit der Originalmethode. Er bewies somit, daß die Flockungsreaktion nach Sachs-Georgi nicht an das Vorhandensein der Globuline gebunden ist, ferner aber auch, daß in den Flocken kein Globulin vorhanden sein kann, da er es ja restlos aus dem Untersuchungssubstrat entfernt hatte. Ausgedehnte quantitative Untersuchungen stellte Scheer an. Er wog die Flocken vor und nach der Aetherextraktion und kommt zu dem Schlusse, daß bei den Flocken der Sachs-Georgi-Reaktion es sich nicht nur um Globuline handeln könne, sondern daß sie zum größten Teil aus Lipoiden bestünden und daß die Reaktion durch die Bindung von Serumglobulin mit den Extraktlipoiden erfolge.

Weitere Untersuchungen über die Meinicke-(D.M.)-Flocken finden wir von R. Bauer und Nyiri. Die beiden Autoren kommen ebenfalls zu den Schlußsätzen, daß es sich um Lipoide handeln müsse. Daß es Extraktlipaide sind, beweist der Versuch, den sie derart ausführten, daß sie zwei Reihen aufstellten; in der ersten Reihe finden wir Röhrchen mit fallender Serummenge von 0,2—0,0001 ccm und der immer gleichen Extraktmenge von 0,8 ccm (verdünnter Extrakt). Hierbei sieht man (die beiden letzten Röhrchen, die den Uebergang zur negativen Reaktion bilden, ausgenommen) in allen anderen ziemlich die gleichen Mengen von Flocken. In der zweiten Reihe stellten sie die Röhrchen mit der gleichen

Serummenge, aber variierender Extraktdosis (von 0,8—0,1 ccm) und beobachteten hierbei eine abnehmende Flockenmenge entsprechend der Extraktdosis. R. Bauer und Nyiri konnten auch beim Verbrennen der abzentrifugierten und getrockneten Meinickeflocken einen auffallenden Geruch nach Akrolein feststellen. Sie kommen daher zu dem Ergebnis, daß die Flocken größtenteils Extraktlipode sind.

Auch Epstein und Paul erhielten die gleichen Resultate und beweisen, daß die ursprüngliche Annahme Meinickes, es handle sich bei der D.M. um eine durch Störung des Kochsalzgleichgewichtes herbeigeführte Globulinflockung, nicht mehr zu Recht bestehe, daß die Flocken vielmehr mit Eiweißkörpern gar nichts zu tun hätten, sondern aus alkohollöslichen Lipiden beständen. Auch diese beiden Autoren finden, daß es sich hauptsächlich um Extraktlipode handle.

Es wandelte sich somit im Laufe der Jahre an der Hand von eingehenden Versuchen die Ansicht über jene Substanz, woraus die Flocken bei der positiven Meinickereaktion (D.M.) bestünden; während man anfangs noch daran festhielt, es mit gefällten Globulinen zu tun zu haben, an die ja die andere serologische Luesreaktion, die Wassermannsche Reaktion, gebunden ist, kam man jetzt immer mehr zur Ansicht, daß es sich um Lipode, und zwar um solche aus dem Extrakt handle. Meine Untersuchungen nehmen nun scheinbar von einer diesem Thema fernabliegenden Beobachtung Kollerts und Starlingers ihren Ausgangspunkt. Diese beiden Autoren zeigten, daß wir im Harnstoff eine Substanz besitzen, die die Fällung des Fibrinogens schon in ganz schwachen, noch physiologischen Konzentrationen hemmt. Es konnte ferner nachgewiesen werden, daß Flocken, die durch Erwärmen von Serum oder durch Kochsalzzusatz entstanden waren, nach Hinzufügen von gewissen Mengen Harnstoff wieder in Lösung übergeführt werden können. Auch Lange betont in einer vor kurzem erschienenen Arbeit, daß wir im Harnstoff ein „exquisit lyotropes“ Mittel besäßen, das sogar sämtliche Bakterien auflöse — eine Ansicht, der ich nach meinen Versuchen allerdings nicht beistimmen kann. Während ursprünglich meine Versuche von dem Gedanken ausgingen,

35*

eventuelle Grenzen der Lösungsfähigkeit der Urea gegenüber verschiedenen organischen Flockungen festzustellen, ergab die genaue Analyse der bei diesen Versuchen beobachteten Tatsachen schließlich Hinweise auf die chemische Zusammensetzung der Meinickeflocken, und nur mit dieser Seite des Problems sollen sich die vorliegenden Untersuchungen beschäftigen. Ich prüfte nun unter anderem, ob Harnstoff auch die Meinickeflocken löse. Sind es Eiweißkörper, so müssen sie nach den eben zitierten Ergebnissen durch Hinzufügen von Urea aufgelöst werden. Ueber das Verhalten des Harnstoffes zur Lösung von Lipoiden ist nichts bekannt.

Zunächst einige Worte über die eingehaltene Technik. Den Extrakt stellte ich folgendermaßen her: Nach der Originalvorschrift Meinickes wurde ein Pferdeherz von Fett und Sehnen völlig befreit und mit einer Fleischfächiermaschine feinst zermahlen. Dieser Fleischbrei wurde auf Glasplatten gestrichen und im Brutofen bei 37 Grad getrocknet, die trockenen Krusten in einem Mörser gestoßen, dann fein zerrieben und gesiebt. Von diesem Herzpulver wurde je ein Gramm mit 9 Volumsteilen Aether versetzt und eine Stunde im Schüttelapparat geschüttelt und hierauf durch ein doppeltes Papierfilter filtriert. Der Rückstand wurde zwecks Abdunstens des Aethers abermals im Brutofen durch mehrere Stunden getrocknet. Hierauf mit 2 Volumsteilen 96-proz. Alkohols versetzt und wieder 24 Stunden bei Zimmertemperatur ausgezogen. Nachdem dieses Extrakt durch ein Papierfilter filtriert worden war, wurde es austitriert. Zu diesem Zwecke wurde nach folgender Tabelle vorgegangen.

| Röhrchen | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------------------|------|------|------|------|------|
| Extrakt | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,2 | 0,1 |
| 96-proz. Alkohol | — | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 |
| Aqua dest. | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 |

Eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen lassen:

| | | | | | |
|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| 2-proz. NaCl | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 |
|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|

Nach dem Hinzufügen des dest. Wassers wurde eine Stunde verstreichen gelassen und erst dann wurde die 2-proz. NaCl-

Lösung rasch dazu gegeben. Dasjenige Röhrchen, das dann eben noch kolloidale Trübung zeigte, wurde als Titerröhrchen angesehen, d. h. es wurde der Stammextrakt mit Alkohol in dem Verhältnis verdünnt, als eben dieses Röhrchen angab. Diese Verdünnung wurde dann im großen hergestellt.

Zum Versuche wurde nun ein Teil Extrakt mit einem halben Teil frischen redestillierten Wassers rasch verdünnt, eine Stunde im Dunkeln stehen gelassen und hierauf ebenfalls rasch mit der 7,5fachen Menge frischer 2-proz. NaCl-Lösung versetzt. Zu je 0,2 ccm aktiven Serums (R. Bauer und Nyiri, Epstein und Paul) wurden 0,8 ccm Extrakt gegeben, die Röhrchen geschüttelt und 24 Stunden im Brutschrank bei 37 Grad und ebensolange bei Zimmertemperatur stehen gelassen, worauf das Resultat abgelesen wurde. Jedesmal wurden Kontrollen mit einem vom Staatlichen Serotherapeutischen Institut beschafften Extrakt angestellt. Von mir bekannt positiven Seren stellte ich nun Meinicke Reaktionen in großen Mengen an und sammelte durch scharfes Abzentrifugieren die Flocken. Wenn eine größere Menge beisammen war, wurden sie mehrmals mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen und bis zur endgültigen Verarbeitung unter Aether aufgehoben.

Bevor ich zur Untersuchung der Meinickeflocken schritt, stellte ich noch Kontrollversuche an. Es wurden zuerst Globulinflocken untersucht, die nach der Methode von Sachs-Altmann gewonnen waren.

I.

1 ccm Serum wird mit 9 ccm n/300 HCl versetzt, hierauf abzentrifugiert. Die so entstandenen Flocken wurden in physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt und zu je 0,5 ccm in Röhrchen verteilt (Globulinflocken).

| Flüssigkeits- menge | Harnstoffzusatz | | | | |
|------------------------|-----------------|-------|-------|-------|-------|
| | 10 mg | 12 mg | 15 mg | 20 mg | 30 mg |
| 0,5 ccm | +++ | +++ | +++ | ± | — |

+++ = deutliche Flockung, ± = schwache Flockung, — = Flocken aufgelöst (klar).

II.

Ammoniumsulfatflocken. Kalt gesättigte Ammoniumsulfatlösung wurde mit 1:5 verdünntem Serum zu gleichen Teilen versetzt (Globulinflocken).

| Flüssigkeits- menge | Harnstoffzusatz | | | | |
|------------------------|-----------------|-------|-------|-------|--------|
| | 40 mg | 60 mg | 80 mg | 90 mg | 100 mg |
| 0,5 ccm | +++ | +++ | +++ | — | — |

III.

Alkoholflocken. Verdünntes Serum (1:5) wurde mit Alkohol versetzt, und zwar 2 Teile Serum + 8 Teile NaCl + 5 Teile 95-proz. Alkohol (Globulin-Albuminflocken).

| Flüssigkeits- menge | Harnstoffzusatz | | | | |
|------------------------|-----------------|-------|-------|-------|--------|
| | 20 mg | 40 mg | 60 mg | 80 mg | 100 mg |
| 0,5 ccm | +++ | +++ | +++ | ++ | — |

IV.

Wärmeflocken. Verdünntes Serum 1:5 wurde durch 15 Minuten in ein Wasserbad von 80° gestellt (Globulin-Albuminflocken).

| Flüssigkeits- menge | Harnstoffzusatz | | | | |
|------------------------|-----------------|-------|-------|-------|--------|
| | 20 mg | 40 mg | 60 mg | 80 mg | 100 mg |
| 0,5 ccm | +++ | +++ | +++ | ++ | — |

Setzte ich nun zu den gesammelten Meinickeflocken Harnstoff in steigender Menge hinzu, so zeigten diese selbst bis zu einer Konzentration, die einer Sättigung entsprach (es verblieben am Boden der Flüssigkeit noch ungelöste Harnstoffkrystalle zurück), keinerlei Veränderungen.

Dieses Verhalten der Meinickeflocken bewog mich nun, sie genauer zu untersuchen, zumal ja in den modernen Arbeiten nur von Lipoiden als dem Hauptbestandteil der Flocken gesprochen wird, ohne ihre Art näher zu beschreiben. Die chemische Untersuchung wurde im Laboratorium des Herrn Dr. S. Fränkel vorgenommen, dem ich auch noch an dieser Stelle für sein lebenswürdiges Entgegenkommen meinen ergebensten Dank abzustatten mir erlaube.

Die Flocken, die nun gesammelt von dem überstehenden Serum durch mehrmaliges Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung gereinigt waren, wurden zuerst mit Aether ausgeschüttelt. Dabei erhielten wir einen löslichen und unlöslichen Teil. Der erstere gab nun mit absolutem Alkohol eine Fällung, die Lecithin entspricht, mit alkoholischer Kadmiumchloridlösung eine unlösliche Kadmiumverbindung: Cephalin. Der zweite Teil der Flockung — die in Aether unlösliche Fraktion — wurde zunächst abgesaugt. Ein Zusatz von dest. Wasser, physiol. Kochsalzlösung oder Lauge vermochte ihn nicht in Lösung zu bringen. Hingegen fielen die Biuret- und Millon'sche Probe deutlich positiv aus; mithin stellte es sich heraus, daß dieser ätherunlösliche Teil ein Eiweißkörper ist. Wir haben somit bis jetzt kleine Mengen von Lecithin und Cephalin in physikalischer Weise an einen vielleicht spezifischen Eiweißkörper gebunden. Physikalisch, da er sich durch physikalische Eingriffe wieder trennen läßt.

Bemerkenswert gestaltete sich die Untersuchung des in Aether löslichen Teiles nach dessen Abdampfen. Es wurde ein fettig aussehender und auch nach Fett riechender, gelblicher Rückstand erhalten, der sowohl die Probe auf Glycerin wie auf Phosphorsäure deutlich positiv zeigte; Stickstoff enthielt er jedoch nicht. Es handelt sich hier also um ein Neutralfett, daß seiner Menge nach eine dominierende Stellung in der Zusammensetzung der Flocken einnimmt. Da die Untersuchung des verwendeten Extraktes die gleichen Bestandteile an Lipoiden aufwies, kann man wohl mit Recht annehmen, daß die in den Flocken gefundenen Substanzen dem Extrakte entstammen. Cholesterin, das Niederhoff im Extrakt feststellte, konnten wir weder in diesem noch in den Flocken nachweisen. Hingegen können wir diesem Autor beistimmen, daß nicht die positiven Sera durch den Extrakt, sondern dieser durch die Sera geflockt wird.

Bisher wurde dem Neutralfett der Meinickeflocken kein Augenmerk geschenkt; erst die folgenden Versuche, die bereits im Zuge sind, werden lehren, wessen Ursprungs die Substanz ist, ob und in welchem Zusammenhange sie mit dem oben gefundenen Eiweißkörper steht.

Zusammenfassung.

- 1) Die Meinicke-(D.M.-)Flocken sind durch Zusatz von Urea nicht auflösbar.
- 2) Die chemische Untersuchung zeigte, daß die Flocken aus geringen Mengen von Lecithin und Cephalin bestehen, die physikalisch an einen Eiweißkörper gebunden sind.
- 3) Ferner wurde Neutralfett gefunden, das in der Flockensubstanz eine dominierende Stellung einnimmt.

Literatur.

- R. Bauer und W. Nyiri, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 33, Heft 4, 5.
K. Bauer, erscheint im Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde.
Epstein und Paul, Arch. f. Hyg., 1921, Heft 3.
— — Med. Klinik, 1921, No. 29, 30.
Joel, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 29, 1920, Heft 3, 4.
H. Lieb, Hoppe-Seilers Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 115, 1921¹⁾.
Kafka, Deutsche med. Wochenschr., 1921, No. 50.
V. Kollert und W. Starlinger, Wien. klin. Wochenschr., 1922, No. 9, 19.
Meinicke, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 27, 28, 29.
— Deutsche med. Wochenschr., 1917; 1918, No. 49; 1919, No. 7, 13, 24, 30;
1920, No. 37.
C. Lange, Klin. Wochenschr., 1922, No. 21, 22.
Niederhoff, Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 11.
Pauli, Kolloidchemie der Eiweißkörper. Dresden u. Leipzig 1920.
Sachs und Georgi, Münch. med. Wochenschr., 1916, No. 16.
Scheer, Münch. med. Wochenschr., 1921, No. 2.
P. Schmid, Zeitschr. f. Hygiene, 1911, Bd. 69.

1) In der mir erst während des Druckes zugekommenen Arbeit H. Liebs finde ich eine teilweise Bestätigung meiner Untersuchungen.

Nachdruck verboten.

[Aus der Medizinischen Universitätsklinik zu Parma
(Direktor: Prof. Dr. Gabbi).]

Ueber eine neue Serumreaktion für die Diagnose der Tuberkulose.

Von Dr. Lina Bonacorsi.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Oktober 1922.)

Ausgehend von der Annahme, daß sich in ähnlicher Weise, wie dies bei den Flockungs- und Trübungsreaktionen mit syphilitischen Sera der Fall ist (Sachs-Georgi, Meinicke, Dold), auch die im Serum tuberkulöser Patienten vermehrten Globuline nach Zusatz eines geeigneten spezifischen Antigens auf Grund einer Dispersitätsverminderung, eventuell einer Ausflockung sichtbar machen lassen und derart diagnostisch verwertet werden könnten, habe ich eine Anzahl diesbezüglicher Versuche ausgeführt, über deren Ergebnisse im folgenden ganz kurz berichtet werden soll. Als Vergleich diente die Besredkasche Komplementbindungsmethode, die mit denselben Sera gleichzeitig ausgeführt wurde.

Als Antigen benützte ich einen cholesterinierten alkoholischen Tuberkelbazillenextrakt, der folgendermaßen hergestellt wurde.

Die Tuberkelbazillen wurden auf schräg erstarrtem Eiernährboden (2 Teile gequirktes Ei + 1 Teil 5-proz. Glycerinbouillon, im Erstarrungsapparat 2 Stunden lang auf 80—90° erwärmt) gezüchtet. Die gut gewachsenen Rasen von 6 derartigen Schrägröhrchen wurden mit 20 ccm absoluten Alkohols 3 Tage lang extrahiert. Der alkoholische Extrakt wurde hierauf durch Filtration von dem Bazillenrückstand getrennt, auf $\frac{1}{4}$ des Volumens auf dem Wasserbad eingengt und dann durch Alkoholzusatz wieder auf das ursprüngliche Volumen (20 ccm) aufgefüllt. Zu je 9 ccm dieses Rohextraktes wurde danach 1 ccm einer 1-proz. Lösung von Cholestearin in absolutem Alkohol zugefügt. Die Sera der Kranken wurden in möglichst frischem Zustande zu den Präzipitationsversuchen verwendet; das Blut wurde den Patienten nach Möglichkeit vor der Mahlzeit entnommen. Das blutkörperchenfreie Serum wurde in der üblichen Weise eine halbe Stunde lang bei 55° inaktiviert.

Die Reaktion selbst wurde in nachstehender Weise ausgeführt. Drei Probegläschen wurden mit je 0,4 ccm des fraglichen Patientenserums beschickt; hierauf wurden verschiedene Extraktmengen (Vol. 2 ccm) zugefügt. Ich ging derart vor, daß ich Extraktverdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung, und zwar 1:10, 1:15 und 1:20 herstellte und davon je 2 ccm in das betreffende Röhrchen einbrachte. Bei nur geringer zur Verfügung stehender Serummenge kann auf das dritte Röhrchen mit der schwächsten Verdünnung verzichtet werden. Zur richtigen Beurteilung sind folgende Kontrollen vorzusehen:

- 1) Serum + Verdünnung von Alkoh. absol. mit physiol. Kochsalzlösung;
- 2) Antigenverdünnung + physiol. Kochsalzlösung;
- 3) Antigenverdünnung + sicher positivem und
- 4) Antigenverdünnung + sicher negativem Serum.

Die Röhrchen kommen für 4 Stunden in den Brutschrank bei 37°, hernach werden sie über Nacht bei Zimmertemperatur gehalten. Die Resultate werden am besten mit Hilfe des Agglutinoskops von Kuhn und Woithe abgelesen. Positiv ist die Reaktion dann, wenn die in dem betreffenden Röhrchen auftretende Trübung stärker als in der entsprechenden Kontrolle ist. Bei stark positiven Fällen kommt es zu Flockenbildung. Der Grad der Trübung, bzw. Präzipitation wird zweckmäßig in der für die Bewertung der Flockungsreaktionen bei Syphilis üblichen Weise mit +, ++, +++ bezeichnet.

Bis jetzt habe ich mittels dieser Methode 150 Patientenserum untersucht. 27 von diesen Kranken waren teils tuberkuloseverdächtig, teils litten sie an klinisch und bakteriologisch sichergestellter Tuberkulose (Pleuritis sicca und exsudativa, Lungenspitzeninfiltrationen, Peritonitis tuberculosa, Tumor albus, Nierentuberkulose, Synovitis tuberculosa). Die Flockungsreaktion war bei 24 von diesen 27 Fällen positiv, trotzdem bei einem Teil der Patienten die Pirquetsche Hautprobe ein negatives Ergebnis hatte und Tuberkelbazillen im Sputum usw. nicht nachgewiesen werden konnten. In 88 Proz. stimmte das Ergebnis der Ausflockungsreaktion mit dem Resultat der Komplementbindung nach Besredka überein.

Bemerkenswert ist die Beobachtung, daß bei positiver Reaktion zwischen der Intensität der Trübung bzw. Flockenbildung und dem Stadium der Erkrankung kein Parallelismus festzustellen war. Schwach positiv war die Präzipitation, in gleicher Weise wie auch die Besredkasche Komplementbindung, bei Syphilis, bösartigen Geschwülsten, manchmal auch bei akuten Infektionskrankheiten während des Fieberstadiums. Eine schwach positive Reaktion besitzt daher nur bei mehrfacher Wiederholung der Probe eine diagnostische Beweiskraft.

In Anbetracht der günstigen Ergebnisse — in 92,5 Proz. positiver Ausfall bei Tuberkulose — glaube ich das Verfahren zur Nachprüfung empfehlen zu dürfen. Im Vergleich mit der Besredkaschen Komplementbindungsmethode bietet die von mir angegebene Reaktion den Vorteil, daß sie ohne hämolytisches System arbeitet und daß sie wegen ihrer Einfachheit nur kurze Zeit zur Ausführung beansprucht.

Zusammenfassung.

Beschreibung einer einfachen serodiagnostischen (Präzipitations-)Methode zum Nachweis tuberkulöser Erkrankungen mittels eines alkoholischen und mit Cholesterin versetzten Tuberkelbazillenextrakts. Die seitherige Erprobung an einem kleinen Material ergab einen positiven Ausfall bei 92,5 Proz. der tuberkulös Erkrankten; in 88 Proz. stimmte das Ergebnis mit dem Resultat der Besredkaschen Komplementbindungsmethode überein.

Nachdruck verboten.

[Aus der Bayrischen Landesimpfanstalt München.]

Immunisierungsversuche mit abgetöteter Variolavakzine.

Von **A. Groth.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 16. Oktober 1922.)

Veranlassung zu den folgenden Versuchen gab die Stellungnahme von E. Friedberger zur Typhus- und Choleraimpfung, über deren Wert und Bedeutung ein endgültiges Urteil noch nicht gefällt werden könne. Nach Friedberger weisen die Erfahrungen der Praxis, namentlich bei Tierimpfungen und auch spezielle Versuche bei Typhus (Metschnikoff) darauf hin, daß eine Immunisierung mit abgetöteten Erregern gegenüber spontan vorkommenden Krankheiten nicht gelingt. Die Analogie der Typhus- und Choleraschutzimpfung mit der Pockenimpfung lehnt Friedberger mit Recht ab, weil die Pockenimpfung zwar mit abgeschwächten, aber doch lebenden Erregern, die Impfung gegen Typhus und Cholera ausschließlich mit abgetöteten Bakterien geschieht. Die Ablehnung würde auch dann schon berechtigt sein, wenn es sich bei dem Vakzineerreger tatsächlich um ein abgeschwächtes Virus handeln würde. Diese allgemeine Auffassung von der Natur des Vakzineerregers ist jedoch nicht richtig. Der Vakzineerreger ist ein durch Tierpassage lediglich verändertes, nicht aber abgeschwächtes Virus. Seine unbeschränkte Vermehrungsfähigkeit, auf der die Gewinnung der Schutzpockenlymphe beruht und die fast absolute Sicherheit, mit der wir bei Verwendung virulenter Vakzine und richtiger Technik Menschen und Tiere infizieren können, sind mit der Auffassung, daß es sich um ein abgeschwächtes Virus handle, nicht in Einklang zu bringen. Nur die Art der von ihm erzeugten Krankheitsbilder weicht infolge seiner Umwandlung zu einem „fixen“ Kontagium wesentlich von den durch den Variolakeim bedingten Erscheinungen ab. Wir könnten also von einer Analogie der Typhus- und Choleraimpfung mit der Vakzination nur dann

sprechen, wenn wir auch bei letzterer nicht lebende, sondern abgetötete Keime verwenden würden.

Ganz abgesehen jedoch davon, ob es berechtigt sein würde, aus irgendwelchen für den Vakzineerreger gefundenen Ergebnissen Analogieschlüsse auf die Immunisierungsmöglichkeiten bei Typhus und Cholera zu ziehen, würde es für die Schutzpockenimpfung selbst von außerordentlich großer praktischer Bedeutung sein, wenn wir an Stelle der bisher geübten kutanen Einverleibung virulenter Vakzinekeime die subkutane oder intrakutane Injektion von abgetöteter, also steriler Lymphe mit dem gleichen oder annähernd gleichen immunisatorischen Erfolg anwenden könnten.

Tatsächlich liegen einige Untersuchungen vor, welche die Möglichkeit einer Immunisierung bei Verwendung abgetöteter Vakzinekeime bejahen, ohne daß bisher daran gedacht worden wäre, aus diesen Ergebnissen die praktischen Folgerungen zu ziehen. Volle Immunität wollen bei Affen Kraus und Volk durch subkutane Injektion von Lymphe, welche $\frac{1}{2}$ Stunde auf 58° C erwärmt war und Prowazek mit Lymphe erzielt haben, welche 6 Stunden mit Kaninchengalle $\bar{a}\bar{a}$ behandelt und durch Kaninchenkorneaimpfung als avirulent erwiesen wurde. Weniger zuversichtlich hinsichtlich des immunisatorischen Erfolges lauten die Angaben von Knöpfelmacher, der bei Kindern durch subkutane Injektion von Lymphe, welche $\frac{1}{2}$ Stunde auf 58° C erwärmt war, nur bei einem Teil der Kinder Immunität erzielte und von Süpfle, der Kaninchen subkutan und intravenös mit Lymphe, welche 1 Stunde auf 60° C erwärmt war, behandelte und ebenfalls nur bei einem Teil seiner Tiere Immunität nachweisen konnte. Die Beurteilung dieser Ergebnisse ist jedoch erschwert, weil die einwandfreie Virulenzbestimmung der zur Reinfektion verwendeten Lymphe fehlte.

Im Gegensatz hierzu ist es Arndt nicht gelungen, mit Schutzpockenlymphe, welche $\frac{1}{2}$ Stunde auf 58° C erwärmt wurde oder auf welche Kaninchengalle $\bar{a}\bar{a}$ 24 Stunden eingewirkt hatte, Kaninchen zu immunisieren.

Zu unseren eigenen an weißen Kaninchen durchgeführten Versuchen begnügten wir uns in Anlehnung an das Abtötungsverfahren bei Typhus- und Choleraimpfstoff mit einer einstündigen Erwärmung der Lymphe auf 56° C im Wasserbad

und prüften die Lymphe sowohl vor als nach dem Wasserbad und ebenso die zur Reinfektion verwendete Lymphe teils durch Kaninchenkorneaimpfung, teils durch die von uns ausgearbeitete quantitative intrakutane Wertbestimmungsmethode. Ueber diese Methode sowie über die Art der Vorbehandlung, namentlich der Enthaarung der Kaninchenrückenhaut, welche wir zur kutanen Einreibung oder zu den intrakutanen Injektionen benutzten, ist a. O.¹⁾ berichtet.

Bei der Wahl des Zeitpunktes der Reinfektion zur Feststellung, ob Immunität eingetreten ist, war zu erwägen, wann eine allenfallsige reaktive Aeüßerung des Organismus im Sinne der Bildung von Antikörpern gegenüber avirulenter Vakzine zu erwarten sein würde. Sicher ist, daß der Resorption abgetöteter Vakzine keine größeren Widerstände entgegenstehen als der Resorption lebender Keime. Es erscheint daher nicht wahrscheinlich, daß der Eintritt der Immunität nach Einverleibung von avirulenter Vakzine sich erheblich verzögern würde.

Wir haben für unser nach Alter und Rasse völlig gleichmäßiges Tiermaterial festgestellt, wann bei den verschiedenen Infektionsmethoden der Eintritt der Immunität nach Vorbehandlung mit virulenter Lymphe zu erwarten ist und im allgemeinen die bisher schon bekannten Ergebnisse bestätigt gefunden.

Die Erstinfektion der Kaninchen erfolgte kutan bzw. intrakutan mit je 2 ccm, subkutan und intravenös mit je 20 ccm 1:10 physiologischer NaCl-Lösung verdünnter, durch Rapid-Crepp-Filtrierpapier filtrierter Vakzine, die Reinfektion durchweg kutan mit 0,25 ccm 1:5 physiologischer NaCl-Lösung verdünnter, unfiltrierter Vakzine. Die vakzinalen Erscheinungen bei nicht immunen, kutan infizierten Tieren sind infiltrierte und gerötete Haut, Pustelplatte und Einzelpusteln, Kniefaltendrüsenschwellung; die intrakutan geimpften Tiere zeigen stark gerötete, derbe vakzinale Infiltrate, bei den subkutan und intravenös infizierten Kaninchen kommen weder allgemeine noch lokale Reaktionen zur Beobachtung.

Aus der Tabelle I geht hervor, daß bei intravenöser Injektion nach 4 Tagen bei einem Tier schon volle Immunität, bei dem zweiten eine stark beschleunigte vakzinale Reaktion

1) A. Groth, Ueber Wertbestimmung der Schutzpockenlymphe. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 92, 1921, H. 1.

nachweisbar wurde, und daß am 7. und dementsprechend auch am 10. Tag mit Immunität gerechnet werden kann. Bei der kutanen und intrakutanen Infektion wurden nach 7 Tagen beschleunigte vakzinale Reaktionen beobachtet und nach 10 Tagen war Immunität sicher vorhanden. Nach subkutaner Injektion verläuft die Reinfektion nach 7 Tagen durchaus unter dem gleichen Bild wie die Erstinfektion, auch nach 10 Tagen ist noch keine Immunität vorhanden. Am 13. Tage zeigten sich die Tiere immun.

Tabelle I.

Eintritt der Immunität bei Kaninchen nach kutaner, intrakutaner, subkutaner und intravenöser Impfung mit virulenter Variolavakzine.

| No. des Kaninchens | Infektionsmethode | Termin der Revakzination | Ergebnis der Reinfektion: Immunitätszustand |
|--------------------|-------------------|-----------------------------|--|
| 1 | kutan | 7 Tage post Erstvakzination | beschleunigte vakzinale Reaktion |
| 2 | " | 10 Tage p. I-Vakz. | Frühreaktion—Immunität |
| 3 | intrakutan | 7 Tage p. I-Vakz. | beschleunigte vakzinale Reaktion |
| 4 | " | 10 " " " | Frühreaktion—Immunität |
| 5 | subkutan | 7 " " " | Pustelplatte, Einzelpusteln, Infiltration der Haut. Keine Immunität. |
| 6 | " | dgl. | dgl. |
| 7 | " | 10 Tage p. I-Vakz. | " |
| 8 | " | dgl. | " |
| 9 | " | 13 Tage p. I-Vakz. | Frühreaktion—Immunität |
| 10 | " | dgl. | dgl. |
| 11 | intravenös | 4 Tage p. I-Vakz. | beschleunigte vakzinale Reaktion |
| 12 | " | dgl. | Frühreaktion—Immunität |
| 13 | " | 7 Tage p. I-Vakz. | dgl. |
| 14 | " | dgl. | " |
| 15 | " | 10 Tage p. I-Vakz. | " |
| 16 | " | dgl. | " |

Die ersten Impfungen mit avirulenter Lymphe, die wir intrakutan, subkutan und intravenös vorgenommen haben, wurden mit steigenden Mengen, und zwar mit 1, 5 und 10 ccm 1:10 und schließlich 10 ccm 1:5 NaCl-Lösung verdünnter, durch Rapid-Crepp-Filtrierpapier filtrierter und 1 h auf 56° im Wasserbad erwärmter Vakzine ausgeführt, also mit Mengen, welche zur Immunisierung als sicher ausreichend angesehen werden durften. 10 ccm einer Verdünnung 1:10 verdünnter oder 1 ccm unverdünnter Lymphe würde genügen, um wenigstens 100 Impfungen an Menschen zu vollziehen.

Bei den intrakutan, subkutan und intravenös geimpften Tieren verlief die Impfung ohne irgendwelche allgemeine oder lokale Erscheinungen; nur die intrakutanen Impfstellen zeigten die geringe, bald vorübergehende Schwellung und Rötung, wie sie sowohl nach Injektion von avirulenter Vakzine beim nicht vorbehandelten Kaninchen oder nach Injektion von viru-

Tabelle II.

Immunisierungsversuche an Kaninchen durch intrakutane, subkutane und intravenöse Impfung mit steigenden Mengen avirulenter Variolavakzine.

| No. des Kaninchens | In-fektions-methode | Menge der Vakzine | Termin der Re-vakzina-tion | Reinfek-tions-methode | Ergebnis der Reinfektion: Immunitätszustand |
|--------------------|---------------------|--------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--|
| 17 | kutan | 1 ccm 1:10 verd. filtr. virul. Vakz. | 14 Tage p. I-Vakz. | kutan | Immunität |
| 18 | " | 1 ccm 1:10 verd. filtr. avir. Vakz. | dgl. | " | Pustelplatte, Einzelpust., Infiltration der Haut. Keine Immunität |
| 19 | intrakutan | dgl. | " | " | dgl. |
| 20 | " | " | " | intra-kutan | Infiltrierte geröt. Papeln, Kniefaltendrüsenschwellung. Keine Immunität. |
| 21 | subkutan | " | " | kutan | Pustelplatte, Einzelpust., Infiltration der Haut. Keine Immunität |
| 22 | " | " | " | intra-kutan | Infiltrierte, geröt. Papeln, Kniefaltendrüsenschwellung. Keine Immunität |
| 23 | intravenös | " | " | kutan | Pustelplatte, Einzelpust., Infiltration der Haut. Keine Immunität |
| 24 | " | " | " | intra-kutan | Infiltrierte, geröt. Papeln, Kniefaltendrüsenschwellung. Keine Immunität |
| 25 | intrakutan | 5 ccm 1:10 verd. filtr. avir. Vakz. | 12 Tage p. I-Vakz. | rechts kutan, links intrakut. | R.: Pustelpl., Einzelpust. Infiltration der Haut L.: Infiltr. geröt. Papeln. Keine Immunität |
| 26 | subkutan | dgl. | dgl. | dgl. | dgl. |
| 27 | intravenös | " | " | " | " |
| 28 | intrakutan | 10 ccm 1:10 verd. filtr. avir. Vakz. | " | " | " |
| 29 | subkutan | dgl. | " | " | " |
| 30 | intravenös | " | " | " | " |
| 31 | intrakutan | 10 ccm 1:5 verd. filtr. avir. Vakz. | 10 Tage p. I-Vakz. | " | " |
| 32 | intravenös | dgl. | dgl. | " | " |

lenter Vakzine beim vakzineimmunen Kaninchen regelmäßig entsteht. Die Reinfektion erfolgte teils kutan, teils intrakutan, und zwar im Einklang mit den vorausgegangenen Versuchen zwischen dem 10. und 14. Tage nach der Erstinfektion, also zu Zeiten, in welchen nach Impfung mit virulenter Vakzine Immunität eingetreten ist.

Das Ergebnis ist, wie aus Tabelle II hervorgeht, ein völlig eindeutiges. Sämtliche Tiere zeigten nach der mit virulenter Vakzine vollzogenen Reinfektion die typische Entwicklung der Kaninchenvakzine mit dem Höhepunkt der Ausbildung nach 3—4 Tagen; Einzelpusteln, Pustelplatte, Infiltration der Haut bei der kutanen und derb infiltrierte, gerötete Papeln bei der intrakutanen Nachimpfung, sowie Kniefalten-lymphdrüsenanschwellung. Es ist demnach bei keinem einzigen Tier, und zwar ebenso unabhängig von der Methode der Infektion wie von der Menge der einverleibten abgetöteten Vakzine Immunität erzielt worden.

Demnach war zwar an sich nicht zu erwarten, daß durch eine andere Versuchsanordnung ein anderes Resultat sich erzielen lassen würde, wir haben jedoch im Hinblick auf die bei der Typhus- und Choleraimpfung gebräuchliche Methode weiterhin festzustellen gesucht, ob durch wiederholte 2-, 3- bis 4-malige, in bestimmten, und zwar fünftägigen Intervallen aufeinander folgende Impfungen mit abgetöteter Schutzpockenlymphe Immunität gegen eine Reinfektion mit virulenter Vakzine zu erzielen ist.

Wir haben wiederum intrakutan, subkutan und intravenös injiziert, und zwar stets je 10 ccm einer 1:10 NaCl-Lösung verdünnter, durch Rapid-Crepp-Filtrierpapier filtrierter und 1 Stunde auf 56° C erwärmter Vakzine. Um Tierverluste zu verhüten, die bei intravenöser Injektion durch Anaphylaxie zu befürchten sind, haben wir etwa 5 Stunden vor der eigentlichen Reinjektion etwa 0,5 ccm der Vakzine injiziert, worauf die Impfung mit den restlichen 9,5 ccm anstandslos vertragen wurde. Bei Kaninchen, die auf intrakutanem und subkutanem Wege vorbehandelt werden, sind Verluste infolge Anaphylaxie nicht zu befürchten.

Die Impfung mit virulenter Vakzine erfolgte jedesmal 10 Tage nach der letzten Reinfektion mit avirulenter Lymphe, und zwar bei allen Tieren auf der einen Seite der Rückenfläche intrakutan mit 5 Injektionen von 0,1 ccm 1:10 NaCl-Lösung verdünnter, filtrierter und auf der anderen Seite kutan mit 0,25 ccm unverdünnter Vakzine. Auch hier war das Ergebnis der Impfung, wie aus Tabelle III hervorgeht, ein völlig eindeutiges. Bei allen Versuchstieren zeigte sich nach der Impfung mit virulenter Vakzine das typische Bild der Kaninchenpocken, und zwar ebenso unabhängig von der Zahl der gemachten Injektionen mit avirulenter Lymphe wie der Methode der Infektion.

Tabelle III.

Immunisierungsversuche an Kaninchen durch wiederholte intrakutane, subkutane und intravenöse Impfung mit avirulenter Variolavakzine.

| No. des Kaninchens | Infektionsmethode | Zahl der Impfungen | Termin der Infektion mit virulenter Vakzine | Ergebnis der Infektion mit virulenter Vakzine. Immunitätszustand |
|--------------------|-------------------|--------------------|---|--|
| 33 | intrakutan | 2 | 15 Tage p. I-Inf. | † an Coccidiosis 24 ^h post Inf. mit virul. Vakzine. |
| 34 | " | 2 | dgl. | Keine Immunität. |
| 35 | " | 3 | 20 Tage p. I-Inf. | dgl. |
| 36 | " | 3 | dgl. | " |
| 37 | " | 4 | 25 Tage p. I-Inf. | " |
| 38 | " | 4 | dgl. | " |
| 39 | subkutan | 2 | 15 Tage p. I-Inf. | " |
| 40 | " | 2 | dgl. | " |
| 41 | " | 3 | 20 Tage p. I-Inf. | " |
| 42 | " | 3 | dgl. | " |
| 43 | " | 4 | 25 Tage p. I-Inf. | " |
| 44 | " | 4 | dgl. | " |
| 45 | intravenös | 2 | 15 Tage p. I-Inf. | " |
| 46 | " | 2 | dgl. | " |
| 47 | " | 3 | 20 Tage p. I-Inf. | " |
| 48 | " | 3 | — | † an Anaphylaxie post III-Inf. mit avirulenter Vakzine. |
| 49 | " | 4 | 25 Tage p. I-Inf. | Keine Immunität. |
| 50 | " | 4 | dgl. | dgl. |

Es darf daher nach unseren Versuchen mit Bestimmtheit ausgesprochen werden, daß Kaninchen weder durch einmalige Einverleibung verschieden großer Mengen noch auch durch wiederholte, bis je viermalige, in Intervallen vorgenommene Impfungen

mit abgetöteter Schutzpockenlymphe zu immunisieren sind.

Damit ist allerdings die Ursache, warum nur das lebende, nicht das abgetötete Virus zur Immunisierung imstande ist, nicht klar gelegt. Der nächstliegende Gedanke wäre der, ob es sich hier nicht um einfache quantitative Unterschiede der Infektionsstärke handelt. Wenn wir nämlich virulente Schutzpockenlymphe einem Organismus einverleiben, so ist dem Vakzinevirus die Möglichkeit gegeben, sich zu vermehren, und die Immunität ist, vielleicht abgesehen von der intravenösen Infektion, auf die aus dieser Vermehrung hervorgegangenen, nicht auf die unmittelbar einverleibten Keimmengen zurückzuführen. Wir haben zwar unseren Kaninchen mehrfach je 10 ccm einer 1:10 verdünnten abgetöteten Lymph injiziert, also sehr hohe Dosen, die zu überschreiten aus praktischen Gründen nicht gut möglich ist, aber sie betragen nur das Mehrhundertfache der im allgemeinen zur Immunisierung gebräuchlichen Menge von virulenter Vakzine. Die Vermehrungsfähigkeit der Vakzineerreger in einem für sie hochempfindlichen Organismus, wie im Körper des Menschen und des Kaninchens, ist sicherlich nicht mit einer mehrhundertfachen Reproduktion erschöpft, sondern geht weit darüber hinaus. Die vitale Funktion des Vakzineerregers könnte möglicherweise lediglich deshalb eine unerläßliche Vorbedingung sein, weil erst durch sie die zur Immunisierung notwendigen Mengen in dem zu immunisierenden Organismus selbst hergestellt werden. Damit steht auch im Einklang, daß die einstündige Erwärmung der Lymph auf 56° C im Wasserbad nicht genügt, um sämtliche Keime zum Absterben zu bringen. Verimpft man nämlich so vorbehandelte Lymph auf die Kaninchenhornhaut, so erhält man noch, wenn auch sehr spärliche, Guarnierische Körperchen, deren Entstehung anscheinend auf einzelne sehr resistente, der Abtötung entgangene Keime zurückzuführen ist. Ihre Zahl ist jedoch zu gering, um Immunität zu erzeugen.

Man könnte Tiere mit verschiedenen großen bis sehr geringen Mengen virulenter Vakzine infizieren und so versuchen, die Grenzschwelle der Infektionsstärke festzustellen, die zur Erreichung einer Immunität gegen Vakzine überschritten

36*

werden muß, und gleichzeitig auch den Grad der erreichten Immunität durch graduell abgestufte Reinfektion zu bestimmen. Versuche, welche nach dieser Richtung hin vorgenommen wurden, ließen, abgesehen von gelegentlichen, auch beim Menschen beobachteten individuellen Schwankungen der Reaktionsfähigkeit unserer Versuchstiere erkennen, daß bei Kaninchen die Erstinfektion zur Bildung einer nicht zu kleinen Zahl typischer Impfpusteln führen muß, wenn auch einer sehr intensiven Reinfektion gegenüber volle Immunität erzielt werden soll. So führte die Erstinfektion eines Kaninchens mit 1 ccm 1:1000 verdünnter Vakzine zur Entwicklung von 108 Einzelpusteln, die Reinfektion mit 1 ccm 1:100 verdünnter Vakzine zur Ausbildung von 43 deutlichen Einzelpusteln. Erstimpfpusteln in einer Zahl von weniger als 50 führten gegenüber intensiven Reinfektionen häufig nur zu beschleunigten vakzinalen Reaktionen, also nicht zur vollen Immunität. Wir haben dabei die Reinfektion erst 17 Tage nach der kutanen Erstimpfung vorgenommen, da bei Infektion mit geringem Material eine Verzögerung des Eintritts der Immunität erwartet werden mußte. Das zur Verfügung stehende Tiermaterial reichte jedoch nicht aus, um aus den Ergebnissen wirklich einwandfreie Schlüsse ziehen zu können.

Zusammenfassung.

Versuche, Kaninchen intrakutan, subkutan und intravenös mit avirulenter (bei 56° 1 Stunde im Wasserbad erwärmter) Variolavakzine zu immunisieren, führen unabhängig von der Methode der Infektion und von der Menge der einverleibten Schutzpockenlymphe zu keinem Erfolg.

Ebenso erfolglos bleiben Versuche, Kaninchen durch wiederholte, in fünftägigen Intervallen aufeinanderfolgende intrakutane, subkutane und intravenöse Impfungen mit gleichbleibenden Mengen avirulenter Vakzine zu immunisieren.

Zur Erzeugung einer Pockenimmunität ist die vitale Funktion des Impfstoffs erforderlich. Ein Ersatz der bisher geübten Infektion mit dem lebenden Vakzineerreger durch Einverleibung avirulenter Vakzine ist nicht möglich.

E
36
56
OCT 1
03
Zeitschrift

für

Immunitätsforschung und experimentelle Therapie

I. Teil: Originale

Unter Mitwirkung von

M. Ascoli, Catania, V. Babes, Bukarest, O. Bail, Prag, E. F. Bashford, London, S. Belfanti, Mailand, A. Breinl, Liverpool, A. Dieudonné, München, R. Doerr, Basel, M. Dorset, Washington, E. v. Dungern, Hamburg, M. Ficker, Berlin, S. Flexner, New York, U. Friedemann, Berlin, P. Frosch, Berlin, M. von Gruber, München, L. Haendel, Berlin-Dahlem, M. Hahn, Berlin, A. Heffter, Berlin, L. Hektoen, Chicago, M. Jacoby, Berlin, C. O. Jensen, Kopenhagen, K. Kißkalt, Kiel, S. Kitasato, Tokio, W. Kolle, Frankfurt a. M., W. Kruse, Leipzig, K. Landsteiner, New York, C. Levaditi, Paris, L. von Liebermann, Budapest, Th. Madsen, Kopenhagen, C. J. Martin, London, L. Michaelis, Berlin, Mießner, Hannover, J. Morgenroth, Berlin, R. Muir, Glasgow, M. Neisser, Frankfurt a. M., F. Neufeld, Berlin, F. Nuttal, Cambridge, R. v. Ostertag, Stuttgart, R. Otto, Berlin, R. Paltan, Wien, A. Pettersson, Stockholm, R. Pfeiffer, Breslau, E. P. Pick, Wien, C. J. Salomonsen, Kopenhagen, A. Schattenfroh, Wien, Cl. Schilling, Berlin, P. Schmidt, Halle a. S., Th. Smith, Boston, G. Sobernheim, Bern, V. C. Vaughan, Ann Arbor, A. v. Wassermann, Berlin, W. Weichardt, Erlangen, A. Wladimiroff, St. Petersburg, A. E. Wright, London, D. Zabolotny, St. Petersburg

herausgegeben von:

E. FRIEDBERGER
(Greifswald.)

R. KRAUS
(Sao Paolo.)

H. SACHS
(Heidelberg.)

P. UHLENHUTH
(Freiburg i. Br.)

36. Band, Heft 5/6.

Mit 14 Abbildungen und 16 Kurven im Text.



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1923

Ausgegeben am 15. Mai 1923.

Inhalt:

| | Seite |
|---|-------|
| Yoshioka, Masaaki, Ueber das Bakteriengift, insbesondere die löslichen Gifte des Dysenterie-, Typhus- und Paratyphusbazillus. (III. Mitteilung.) . . | 395 |
| Yoshioka, Masaaki, Ueber das Bakteriengift, insbesondere die Schwankungen der direkten und indirekten letalen Dosis der Typhusbazillen beim Meer-schweinchen. (IV. Mitteilung.) | 419 |
| Bien, Z., Beiträge zur Morphologie und Entwicklung des Bacillus typhi ex-anthematici (Weil-Felix). Mit 5 Abbildungen im Text | 431 |
| Selmone, V., Zur Komplementkonservierung, insbesondere in hypertonischer Salzlösung | 443 |
| Michaelis, L., und Nakahara, Y., Die fettspaltenden Fermente der Bakterien. Mit 16 Kurven im Text | 449 |
| Goerttler, V., Die Differenzierung von Rauschbrand und rauschbrandähnlichen Bazillen durch einen komplizierten Tierversuch | 463 |
| Jaggi, M., Ueber das Wiederauftreten latent gewordener Agglutinine nach par-enteraler Einverleibung von Deuteroalbumose oder Natrium nucleinicum. Mit 9 Abbildungen im Text | 482 |
| Reiner, L., und Marton, A., Ueber die Wirkung der Eiweißabbauprodukte im Blute bei Schwangerschaft, Karzinom, Infektionskrankheiten usw. . . . | 503 |
| Michaelis, L., und Hayashi, J., Die Abhängigkeit der Wirkung des Trypaflavin und des Rivanol von der Alkalität | 518 |
| Bauer, Karl, Beitrag zum Chemismus der Meinicke-Reaktion (D.M.) | 523 |
| Bonacorsi, Lina, Ueber eine neue Serumreaktion für die Diagnose der Tuber-kulose | 531 |
| Groth, A., Immunisierungsversuche mit abgetöteter Variolavakzine | 534 |
| Titel und Inhalt zu Band 36. | |

Die außerordentlich hohen Korrekturkosten zwingen uns, die Herren Mitarbeiter zu bitten, ihre Manuskripte gut leserlich abzufassen und vor Einreichung genau durchzusehen, d. h. druckfertig abzuschließen, so daß sachliche Aenderungen soweit als nur irgend möglich vermieden werden. Manuskripte sind zu senden an Herrn Prof. Dr. Friedberger, Hygiene-Institut Greifswald, oder an Herrn Prof. Dr. H. Sachs, Krebsinstitut Heidelberg, oder an Herrn Geheimrat Prof. Dr. P. Uhlenhuth, Institut für experimentelle Therapie (Emil v. Behring), Marburg (Lahn).

Die Herausgeber.

Die Verlagsbuchhandlung.

Verzeichnis medizinischer Literatur

Auswahl aus dem Verlag von Gustav Fischer in Jena.
144 S. (Oktavformat.) Herbst 1921 und Nachtrag 8 S. Herbst 1922.

Dieses Verzeichnis enthält in systematischer Einteilung eine reichhaltige Auswahl und Uebersicht der Veröffentlichungen der Verlags-handlung aus den verschiedenen Disziplinen der medizinischen Wissen-schaft. Am Schluß ist ein alphabetisches Namenverzeichnis beigefügt, so daß der Katalog gleichzeitig als bibliographisches Hilfsmittel dient und bleibenden Wert behalten wird.

Zusendung erfolgt kostenfrei durch jede Buchhandlung oder vom Verlag. Man verlange Verzeichnis Nr. 29.

Der Preis für die angezeigten Bücher ergibt sich durch Vervielfältigung der hinter dem Titel stehenden Grundzahl (Gz) mit der vom Börsenverein der Deutschen Buchhändler jeweils festgesetzten Schlüsselzahl. Die für gebundene Bücher sich ergebenden Preise sind nicht verbindlich. — Bei Lieferung nach dem Ausland erfolgt Berechnung in der Währung des betr. Landes.

Arbeiten aus der medizinischen Klinik zu Leipzig.

(Prof. Dr. A. Strümpell.)

Heft 1: **Die Klinik der syphilitischen Aortenerkrankung.** Von Dr. **Ed. Stadler**, Privatdozent an der Universität. Mit 1 Tafel (mit 4 Röntgenabbildungen). II, 93 S. gr. 8° 1921 Gz 3.—

Heft 2: **Erfahrungen über die Röntgenuntersuchungen der Lungen** unter besonderer Berücksichtigung anatomischer Kontrollen. Von Dr. **Herbert Assmann**, Privatdozent, Assistent an der medizinischen Klinik zu Leipzig. Mit einem Vorwort von A. v. Strümpell. Mit 8 Textabbildungen und 56 Abbildungen auf 14 Tafeln. V, 167 S. gr. 8° 1914 Gz 18.—

Heft 3: **Klinische Studien zur Pathologie und Behandlung der Diphtherie** auf Grund der Erfahrungen bei der Diphtherie-Epidemie in Leipzig 1914—1916. Von Dr. **Georg Dörner**, Privatdozent, Assistent an der medizinischen Klinik zu Leipzig. Mit einem Vorwort von A. Strümpell. Mit 6 Abbild., 11 Kurven und einer Kurventafel im Text. IV, 136 S. gr. 8° 1918 Gz 4.—

Das Buch behandelt eine der schweren Epidemien und berücksichtigt besonders die zahlreichen Komplikationen. Eingehend werden die Herzscheidigungen bei der Krankheit studiert und die Diagnose derselben klinisch sowie mittels Röntgenverfahrens und Blutdruckmessung gewürdigt. Ein großer Abschnitt beschäftigt sich mit den modernsten Methoden der Bekämpfung, die kritisch an der Hand des reichlichen Materials der Klinik aus Vorserumzeit und Serumzeit besprochen und abgehandelt werden.

Heft 4: **Der Krankheitsverlauf des Typhus**, betrachtet vom Standpunkt der Immunitätsforschung. Mit besonderer Berücksichtigung der Einwirkung der prophylaktischen Schutzimpfungen. Von Dr. **Hans Oeller**, Oberarzt an der medizin. Abteilung des Krankenhauses St. Jakob in Leipzig und Privatdozent an der Universität. Mit einem Vorwort von Prof. Dr. A. Strümpell. Mit 3 Taf. IV, 111 S. gr. 8° 1920 Gz 4.—

Heft 5: **Die Lipomatosis und ihre klinischen Formen.** Ein Beitrag zur Physiologie und Pathologie des Fettgewebes. Monographisch bearbeitet von Dr. **Hans Günther**, Assistent der medizinischen Klinik in Leipzig. Mit 7 Abbildungen im Text und 5 Tafeln. IV, 216 S. gr. 8° 1920 Gz 7.50

Soeben erschien:

Heft 6: **Studien zur Physiologie und Pathologie des Liquor cerebrospinalis** mit besonderer Berücksichtigung seiner örtlichen Verschiedenheiten im Zell- und Eiweißgehalt. Von Dr. med. **Walther Weigeldt**, Assistent an der medizinischen Klinik der Universität Leipzig. Mit 1 Abbildung im Text. III, 135 S. gr. 8° 1923 Gz 4.—

Mit der vorliegenden Untersuchung sucht der Verfasser den Beweis zu führen, daß die bisher für sicher gehaltene Annahme, der Liquor cerebrospinalis sei eine allorts gleichmäßig zusammengesetzte Flüssigkeit, den Tatsachen nicht entspricht. Die Arbeit wird bei Dermatologen, Biologen und auch praktischen Aerzten lebhaftem Interesse begegnen.

Neuerscheinung
aus dem Verlag von Gustav Fischer in Jena

Allgemeine Biologie

Von
Oscar Hertwig

Sechste und siebente, verbesserte und erweiterte Auflage.

Bearbeitet von

Oscar Hertwig† und **Günther Hertwig**

o. Professor der Anatomie in Berlin a. o. Professor der Anatomie in Rostock i. M.

Mit 496 teils farbigen Abbildungen im Text. XVII, 822 S. gr. 8°. 1923.

Gz 10.—, geb. 13.—

Inhalt: **I. Die Zelle als selbständiger Organismus.** 1. Geschichtliche Einleitung: (Zellentheorie, Protoplasmatheorie.) 2.-3. Die chemisch-physikalischen und morphologischen Eigenschaften der Zelle. 4.-9. Die Lebens-eigenschaften der Zelle: Stoff- und Kraftwechsel der Zelle. Die Bewegungser-scheinungen. Das Wesen der Reizerscheinungen. Untersuchung der einzelnen Reizarten. Die Fortpflanzung der Zelle auf dem Wege der Teilung. (Der Prozeß der Kernteilung und seine verschiedenen Arten. Verschiedene Arten der Zellvermehrung und experi-mentelle Abänderung des Verlaufs der Zellteilung.) Das Problem von der Urzeugung der Zelle. 10. Die Erscheinungen und das Wesen der Befruchtung. Der Be-fruchtungs- und Reduktionsprozeß im Tierreich, im Pflanzenreich, im Protistenreich. 11. Die Physiologie des Befruchtungsprozesses. Die Befruchtungsbedürftig-keit der Zellen. (Parthogenese, Merogonie.) Die sexuelle Affinität. (Selbstbefruchtung. Bastardbefruchtung.) 12. Die Zelle als Anlage eines Organismus. Geschichte der älteren Entwicklungstheorien. Neuere Zeugungs- und Entwicklungstheorien. (Die Idioplasmatheorie. Die Mendelschen Regeln.) 13. Die Entfaltung der Erbanlagen und die Rolle des Kerns im Stoffwechsel der Zelle. — Literatur zu Kapitel 1-13. — **II. Die Zelle im Verband mit anderen Zellen.** 14. Die Individualitäts-stufen im Organismenreich. 15. Artgleiche, symbiontische, parasitäre Zellvereinigung. 16. Mittel und Wege des Verkehrs der Zellen im Organismus. 17.-24. Die Theorie der Biogenese: Die Lehre von der Spezifität der Zellen, ihren Metamorphosen und ihren verschiedenen Zuständen. Die äußeren und inneren Faktoren der organischen Entwicklung. (Die Schwerkraft. Die Zentrifugal- kraft. Mechanische Einwirkungen von Zug, Druck und Spannung. Licht. Temperatur. Radium- und Röntgenstrahlen. Reize. Korrelationen der Zellen, Organe, Gewebe. Die Erscheinungen der Regeneration und Heteromorphose.) 25. Die im Organismus der Zelle enthaltenen Faktoren des Entwicklungsprozesses: Eiwachstum; Färbungsprozeß; Gastrulation und Keimblattbildung. 26. Die Geschlechtsbe- stimmung oder das Sexualitätsproblem. 27. Die Kontinuität des Lebensprozesses und die Kernidioplasmatheorie. 28. Die Veränderungs- fähigkeit des Idioplasmas und die Vererbung neuerworbener Anlagen. 29. Ergänzende Betrachtungen: a) Die Biogenesistheorie, das biogenetische Grund- gesetz und das ontogenetische Kausalgesetz. b) Das Prinzip der Progression in der Ent- wicklung. 30. Erklärung der Unterschiede pflanzlicher und tierischer Form durch die Theorie der Biogenese. 31. Kurze Zusammenfassung der wesentlichen Grundsätze der Biogenesistheorie. — Literatur zu Kap. 14-30. — Register.

Zentralblatt für Physiologie, Band 26, Nr. 17: . . . Der umfassende Ueberblick über die unendliche Fülle der verarbeiteten Details und das klare Urteil und Abwägen des Bedeutsamen, zusammen mit der seltenen Fähigkeit, anregend und fesselnd zu schreiben, haben dem Buche die künstlerische Abrundung und Schönheit bewahrt, die bei den früheren Auflagen, wie bei den anderen Büchern Hertwigs, mit Recht so hoch geschätzt werden.
H. Pieper, Berlin.

Naturwissenschaftliche Wochenschrift, 1920, Nr. 30: Hertwigs „All- gemeine Biologie“ bedarf einer besonderen Empfehlung nicht mehr. Es wird nicht viele Biologen geben, seien es nun Naturwissenschaftler im engeren Sinne, oder seien es über ihr Fachgebiet hinaus interessierte Mediziner, denen das Buch unbekannt geblieben ist. Wer sich über Morphologie und Biologie der Zelle, dieses Thema im weitesten Sinne gefaßt, unterrichten will, der findet in der „Allgemeinen Biologie“ ein außerordentlich reiches Tatsachenmaterial zusammengetragen und wohlverarbeitet, und auch der Spezialist auf dem Gebiete kann manche Anregung aus dem Buche schöpfen. Nachtsheim.

Frommannsche Hofbuchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF ILLINOIS AT
URBANA-CHAMPAIGN

UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA



3 0112 027689691